

通脉养心丸质量控制研究

阎维维¹, 张咏梅^{2*}

1. 天津市环湖医院 药剂科, 天津 300060

2. 天津市儿童医院, 天津 300074

摘要: 目的 建立通脉养心丸质量控制方法。方法 采用 TLC 法鉴别制何首乌、甘草; 采用 HPLC 法测定通脉养心丸中甘草酸的量。结果 制何首乌和甘草的 TLC 鉴别效果良好、专属性强、分离度高, 且阴性对照无干扰; 甘草酸进样量在 0.133 6~3.006 9 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系 ($r=1.000\ 0$); 平均回收率为 97.7%, RSD 为 0.78% ($n=6$)。结论 所建立的质量分析方法稳定可靠, 可用于通脉养心丸的质量控制。

关键词: 通脉养心丸; 质量控制; 甘草酸; 制何首乌; 甘草

中图分类号: R286.02 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)09-1751-04

Quality control of Tongmai Yangxin Pills

YAN Wei-wei¹, ZHANG Yong-mei²

1. Department of Pharmaceutics, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

2. Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China

Key words: Tongmai Yangxin Pills; quality control; glycyrrhizin; *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

通脉养心丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》第 10 册, 由地黄、鸡血藤、制何首乌、甘草、党参等 11 味中药组成, 具有养心补血, 通脉止痛的功效, 用于胸痹心痛, 心悸怔忡, 心绞痛, 心律不齐等症^[1-5]。甘草甘温益气、通经脉、利血气, 缓急养心为君, 甘草主要活性成分为甘草酸。原标准仅要求符合丸剂的制剂通则规定, 无疑对于一个中药复方的质量控制方法过于简单, 不能起到质量控制的作用。为了有效控制该制剂质量, 笔者采用 TLC 法对通脉养心丸中制何首乌、炙甘草进行定性鉴别^[6], 并采用 HPLC 法对方中甘草酸进行定量测定^[7-8], 以建立起质量控制方法。该方法简便、准确、专属性及重现性好, 可用于通脉养心丸的质量控制。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 配置自动进样器、柱温箱、UV 监测器、Agilent 1100 色谱工作站; AB204—N 型电子天平 (梅特勒-托利仪器有限公司); AS3120 超声波清洗仪 (天津

奥特赛恩斯仪器有限公司)。硅胶 G 薄层板 (青岛海洋化工分厂)。

通脉养心丸 (实验室工艺研究用样品, 批号分别为 1001、1002、1003、1004、1005、1006、1007、1008、1009、1010); 甘草酸单铵盐对照品 (批号 731-9202, 在选定色谱条件下, 按归一化法计算, 质量分数在 98% 以上, 使用前 60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥 4 h)、制何首乌 (批号 0934-9704)、甘草 (批号 0904-200007) 对照药材均购于中国药品生物制品检定所; 大黄素 (批号 110756-200110, 购于中国药品生物制品检定所, 质量分数在 98% 以上)。甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯; 水为天磁纯净水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 通脉养心丸中甘草的鉴别 取通脉养心丸 3 g, 研细, 加甲醇 40 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣用水 15 mL 溶解, 用醋酸乙酯萃取 3 次, 每次 20 mL, 合并萃取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取按通脉养心

收稿日期: 2011-02-21

作者简介: 阎维维 Tel: 13902091666 E-mail: tianjinwjg@yahoo.com.cn

*通讯作者 张咏梅 E-mail: niuminghan@vip.163.com

丸处方及制备工艺制备的缺甘草的阴性样品 3 g, 同法制成阴性对照溶液。另取甘草对照药材 0.5 g, 加甲醇 10 mL, 超声处理 10 min, 同法制成对照药材溶液。照《中国药典》2010 年版一部附录 VI B 薄层色谱法, 吸取上述 3 种溶液各 3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-甲酸 (15:4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 烘烤至斑点显色清晰。供试品色谱图中, 在与对照药材色谱图相应的位置上显相同颜色的斑点, 甘草阴性对照色谱图中, 无此斑点。色谱图见图 1。

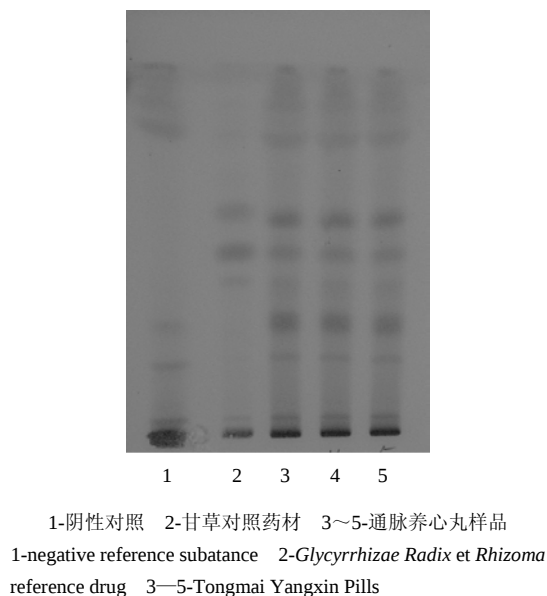
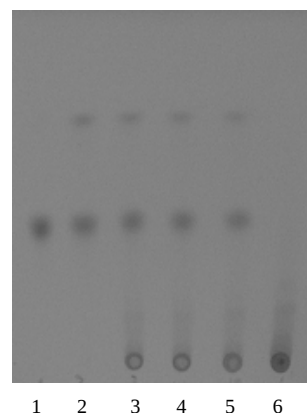


图 1 甘草的 TLC 鉴别

Fig. 1 TLC chromatogram of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

2.1.2 通脉养心丸中制何首乌的鉴别 取通脉养心丸 3 g, 研细, 加 95% 乙醇 30 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣用水 15 mL 溶解, 用氯仿萃取 3 次, 每次 15 mL, 合并萃取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取按通脉养心丸处方及制备工艺制备的缺制何首乌阴性样品 3 g, 同法制成阴性对照溶液。另取制何首乌对照药材 0.5 g, 加氯仿 20 mL, 超声处理 20 min, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。另取大黄素对照品, 加氯仿制成 0.5 mg/mL 的对照品溶液。照《中国药典》2010 年版一部附录 VI B 薄层色谱法, 吸取上述 4 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-甲酸 (40:5:0.2) 为展开剂,

展开, 取出, 晾干, 置氨气中熏至斑点显色清晰。供试品色谱图中在与对照药材和对照品色谱图相应的位置上, 显相同的红色斑点, 制何首乌阴性对照色谱图中无此斑点。色谱图见图 2。



1-emodin reference substance 2-*Polygoni Muhiflori Radix Praeparata* reference drug 3~5-Tongmai Yangxin Pills 6-negative sample

图 2 制何首乌的 TLC 鉴别

Fig. 2 TLC chromatogram of *Polygoni Muhiflori Radix Praeparata*

2.2 甘草酸的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil 不锈钢柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, 天和色谱实验室填装), 流动相为乙腈-0.1 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸 (29:71:0.5), 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测波长 253 nm。理论板数按甘草酸峰计算不低于 5 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取甘草酸单铵盐对照品 10.44 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 417.6 μ g/mL 对照品储备液。精密吸取对照品储备液 4 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 66.816 μ g/mL 对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液与阴性对照液的制备 取重量差异项下的通脉养心丸, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 静置; 精密量取上清液 10 mL, 蒸干, 残渣用 15 mL 水分次转移置分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇萃取 3 次, 每次 15 mL, 合并萃取液, 蒸干, 残渣用 70% 甲醇定量转移至 10 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。另取按通脉养心丸处方及制备工艺制

备的缺甘草阴性样品 0.5 g, 同法制成阴性对照液。

2.2.4 专属性试验 在选定的色谱条件下, 分别取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照液各 15 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明供试品溶

液在与甘草酸对照品溶液相应保留时间处呈相同的色谱峰, 而阴性对照液在相应的保留时间处无吸收峰出现, 阴性对照对甘草酸的测定无干扰。色谱图见图 3。

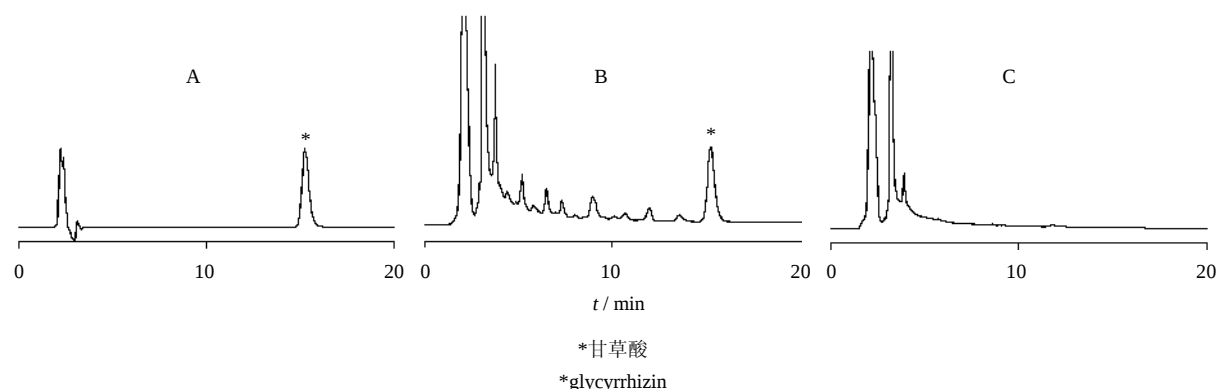


图 3 甘草酸对照品 (A)、通脉养心丸 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of glycyrrhizin reference substance (A), Tongmai Yangxin Pills (B), and negative sample (C)

2.2.5 线性范围考察 分别精密量取甘草酸单铵盐对照品溶液 2、8、15、30、45 μ L 注入 HPLC 仪, 记录色谱图, 以进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y=750.67 X+0.079$, $r=1.000 0$, 表明甘草酸在 0.133 6~3.006 7 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 取对照品溶液 15 μ L, 连续进样 6 次, 记录色谱峰, 计算得甘草酸峰面积积分值的 RSD 为 0.16%。

2.2.7 稳定性试验 取批号 1001 的通脉养心丸样品制备供试品溶液, 密闭放置于室温中, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录色谱峰, 计算得甘草酸峰面积积分值的 RSD 为 1.47%, 表明室温条件下供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 重现性试验 取批号 1001 的通脉养心丸样品平行制备 6 份供试品溶液, 分别进行测定, 记录色谱峰, 计算得通脉养心丸中甘草酸质量分数的 RSD 为 1.63%。

2.2.9 回收率试验 取批号 1001 的通脉养心丸样品 6 份, 研细, 取约 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 准确加入 2.0 mL 甘草酸单铵盐对照品储备液, 制备供试品溶液, 分别进样测定, 计算加样回收率。结果平均回收率为 97.7%, RSD 为 0.78%。

2.2.10 样品测定 取 10 批样品, 分别制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液、对照品溶液各 10 μ L 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 以外标法

计算样品中甘草酸的量。测定结果见表 1。

表 1 样品测定结果

Table 1 Determination of samples

批号	甘草酸/(mg·mL ⁻¹)	批号	甘草酸/(mg·mL ⁻¹)
1001	2.58	1006	2.63
1002	2.66	1007	2.56
1003	2.70	1008	2.37
1004	2.65	1009	2.71
1005	2.62	1010	2.42

10 批中试生产样品所用甘草为同一批次, 其甘草酸的量为 2.06%, 样品中甘草酸的量平均值为 2.59 mg/g, 由此可知甘草酸的转移率约为 84.2%; 《中国药典》2010 年版一部规定甘草药材中含甘草酸的量不得低于 2.0%, 根据《中国药典》对甘草中甘草酸的限量要求以及 10 批中试样品中甘草酸的提取率, 故暂定通脉养心丸中含甘草以甘草酸计不得少于 1.8 mg/g。

3 讨论

在 TLC 鉴别试验中, 曾对甘草、制何首乌、地黄、鸡血藤等多种药材进行鉴别研究, TLC 结果显示呈阳性, 但由于通脉养心丸由 11 味中药组成, 成分复杂, 不能很好地排除干扰, 因此仅选定分离效果好、重现性好的甘草、制何首乌鉴别方法作为质控方法。

分别考察了甲醇、70%甲醇、乙醇、70%乙醇、

流动相作为提取溶剂对甘草酸提取效果的影响,结果表明,几种提取溶剂的测定结果有差异,用 70% 甲醇作为提取溶剂测定的甘草酸的量最高,故采用 70% 甲醇为提取溶剂。同时对提取方法和提取时间进行考察,结果表明,超声和加热回流两种提取方式无显著差异,考虑到通脉养心丸中甘草为生药粉入药,为了保证提取完全,选用加热回流提取 30 min 为宜。

由于样品中水溶性杂质较多,供试品溶液制备过程中未经正丁醇处理而直接进样时,在色谱图中有大量的大极性杂质峰出现,同时有少量的小峰干扰甘草酸的测定,因此,采用水饱和正丁醇对供试品溶液进行萃取,以减轻色谱柱负荷,同时提高各色谱峰的分度;结果表明萃取 4 次与萃取 3 次测定的甘草酸量无明显差异,说明萃取 3 次即可将甘草酸萃取完全。

参考文献

- [1] 肖 扬, 张家福, 张 玲, 等. 从钙超载角度探讨通脉养心丸心肌保护作用的机制 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(5): 562-563.
- [2] 王 怡, 张 玲, 肖 扬, 等. 通脉养心丸对缺氧诱导心肌细胞损伤炎症因子及氧化应激的影响 [J]. 中医杂志, 2011, 52(4): 326-328.
- [3] 赵树仪, 王淑英. 通脉养心口服液与通脉养心丸药理作用比较 [J]. 中草药, 1994, 25(6): 308-309.
- [4] 蔡小军, 王 怡, 胡利民, 等. 通脉养心丸抗肾上腺素急性心律失常作用 [J]. 天津中医药大学学报, 2009, 28(3): 133-135.
- [5] 李 珂, 孙兰军, 高克俭, 等. 通脉养心丸治疗冠心病室性早搏 (气阴两虚证) 多中心临床研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2010, 8(4): 401-403.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [7] 纪丽莎, 张先福, 喻卫武, 等. HPLC 法测定黄连复方汤中盐酸小檗碱、表小檗碱、药根碱、盐酸巴马汀和甘草酸 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 285-287.
- [8] 曲 佳, 张 莱, 周 军. HPLC 法测定通脉养心丸中甘草酸的含量 [J]. 天津药学, 2009, 21(5): 3-5.

《中草药》杂志最新佳绩

《中国科技期刊引证报告》2010 年 11 月 26 日发布:《中草药》杂志 2009 年总被引频次 5 631, 名列我国科技期刊第 16 名, 中医中药类期刊第 1 名; 影响因子 0.627, 基金论文比 0.620, 他引率 0.890, 权威因子 2 202.980; 连续 6 年 (2005—2010 年) 荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

《中草药》杂志 2009 年 12 月荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”, 执行主编陈常青研究员荣获“新中国 60 年有影响力的期刊人”。

《中草药》杂志荣获第二届中国出版政府奖 (中国出版政府奖是中国出版界的最高奖, 此次评选是在全国约 5 000 种科技期刊中评选出前 10 名为中国出版政府奖, 11~30 名为中国出版政府奖提名奖), 2011 年 3 月 18 日于北京举行盛大的颁奖典礼。