

·质量分析研究·

双丹胶囊质量标准研究

吕渭升, 徐美丽, 刘昌辉, 黄小桃, 宓穗卿, 王宁生(广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 建立双丹胶囊的质量标准。**方法** 用薄层色谱(TLC)法对双丹胶囊中的牡丹皮、丹参进行鉴别, 用高效液相色谱法(HPLC)测定双丹胶囊中丹皮酚、丹参素和丹酚酸 B 的含量。**结果** TLC 法可对牡丹皮、丹参进行鉴别, 且斑点清晰, 分离度好, 易于识别; HPLC 测定结果显示, 丹皮酚、丹参素和丹酚酸 B 浓度分别在 $3.63 \sim 36.30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$)、 $29.45 \sim 294.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$) 和 $24.32 \sim 243.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$) 范围内与其峰面积线性关系良好, 平均回收率分别为 100.2 %、100.5 %、100.45 %, RSD 分别为 2.2 % ($n=6$)、0.9 % ($n=6$)、2.88 % ($n=6$)。**结论** 本实验的定性、定量方法准确、简便, 可为双丹胶囊质量标准的提高提供科学依据。

关键词: 双丹胶囊; 牡丹皮; 丹参; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0055-07

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.015

Study on Quality Standard of *Shuangdan* Capsule

LV Weisheng, XU Meili, LIU Changhui, HUANG Xiaotao, MI Suiqing, WANG Ningsheng (Clinical Pharmacology Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish the quality standard of *Shuangdan* capsule. **Methods** Thin layer chromatography (TLC) was used for the identification of Cortex Moutan and Radix Salviae miltiorrhizae, and high performance liquid chromatography(HPLC) was used for content determination of paeonol, tanshinol and salvianolic acid B in *Shuangdan* capsule. **Results** Cortex Moutan and Radix Salviae miltiorrhizae could be detectable by TLC, the spots were clear and the dissociation was good. The established HPLC method was simple and accurate. And the linear ranges of paeonol, tanshinol and salvianolic acid B in *Shuangdan* capsule were $3.63 \sim 36.30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$), $29.45 \sim 294.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$), $24.32 \sim 243.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$), respectively, and their recovery rates were 100.2 % (RSD=2.2 %, $n=6$), 100.5 % (RSD=0.9 %, $n=6$), 100.45 % (RSD=2.88 %, $n=6$), respectively. **Conclusion** The established method are easy and accurate, and can be used for the quality control of *Shuangdan* capsule.

Keywords: *Shuangdan* capsule; Cortex Mouta; Radix Salviae miltiorrhizae; Thin layer chromatography; High performance liquid chromatography

双丹胶囊收载于国家药品监督管理局国家药品标准^[1], 由牡丹皮、丹参 2 味中药组成, 具有改善心肌微循环, 增加冠状动脉的血流量, 降低心肌的耗氧量, 维持缺氧心肌的氧代谢供求平衡, 保护心脏的功能, 还可抗血栓形成和抗动脉粥样硬化^[2]。现标准中的质控指标丹参素和原儿茶醛^[3], 均来自于丹参, 不能代表全方药效物质基础。为了更好地控制该胶囊的

质量, 本研究以丹皮酚、丹参素和丹酚酸 B 作为质量控制指标, 使用 TLC 和 HPLC 对双丹胶囊进行定性和定量研究, 为改进和提高双丹胶囊的质量控制标准提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-高效液相色谱仪(2988 PDA 紫外检测器,

收稿日期: 2013-09-30

作者简介: 吕渭升, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药有效性与安全性。Email: 731535332@qq.com。通讯作者: 刘昌辉, 副研究员, 研究方向: 中药有效性及安全性及中药药代动力学。Email: realluch@gmail.com。

基金项目: 国家药品标准提高研究课题(519, 520, 521)。

Waters 515 HPLC Pump, Sykam S 5200 Autosampler, AT-330 色谱柱恒温箱), 美国 Waters 公司。AUW220D 型十万分之一分析天平, 日本 SHIMADZU 公司; DL-360A 超声波清洗器, 上海之信仪器有限公司; CAMAG PEPROSTAR3 薄层色谱成像仪, 瑞士 CAMAG 公司。

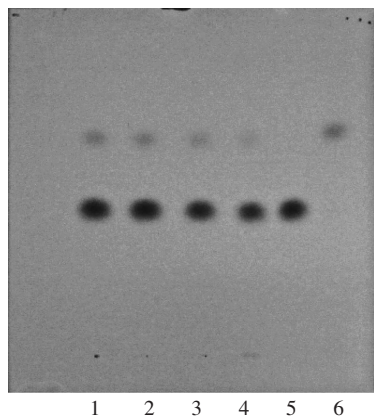
1.2 试药 双丹胶囊, 广州莱泰制药有限公司, 批号: 120205, 120301, 120302; 丹皮酚(批号: 110708-200506)、丹参素钠(批号: 110855-201210)、丹酚酸 B(批号: 111562-201009)、牡丹皮对照药材(批号: 121490-201102)及丹参对照药材(批号: 120923-201113), 中国生物制品检定所; 甲醇、乙腈, 色谱纯, 美国 Dimka 公司; 其他试剂均为分析纯; 硅胶薄层板, 青岛海洋化工厂。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 牡丹皮的 TLC 鉴别 取双丹胶囊 4 g, 置具塞锥形瓶中, 加乙醚 30 mL, 密塞, 振摇 10 min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加丙酮 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取牡丹皮对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。取丹皮酚对照品, 加丙酮制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(5:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以盐酸酸性 5%三氯化铁乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 结果见图 1。

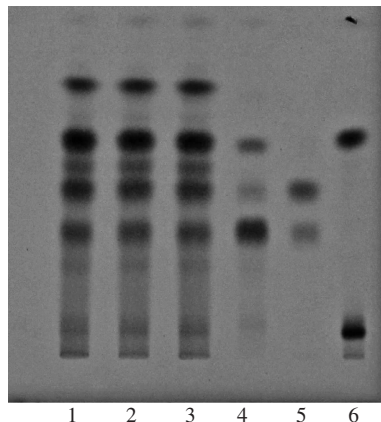
2.1.2 丹参的 TLC 鉴别 取双丹胶囊 3 g, 置具塞锥形瓶中, 加水 50 mL, 加盐酸 0.1 mL, 超声处理 30 min, 离心, 滤过, 滤液用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 40 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取丹参对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。取丹酚酸 B 和丹参素钠对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(2:3:4:0.5:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2%三氯化铁乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位



1~3. 双丹胶囊样品; 4. 牡丹皮; 5. 丹皮酚对照液; 6. 阴性对照溶液

图 1 牡丹皮薄层色谱图

Figure 1 The TLC chromatogram of Cortex Mouta



1~3. 双丹胶囊样品; 4. 丹参; 5. 丹参素钠、丹酚酸 B 对照液; 6. 阴性对照溶液

图 2 丹参薄层色谱图

Figure 2 The TLC chromatogram of Radix Salviae miltiorrhizae

置上, 显相同颜色的斑点, 结果见图 2。

2.2 丹皮酚含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: phenomenex Prodigy OSD3 100A(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(48:52); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 流速: 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 检测波长: 274 nm; 进样量: 10 μ L。理论塔板数按丹皮酚峰计算应不低于 4000。

2.2.2 供试溶液的制备 取双丹胶囊(批号: 120302)内容物 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz)30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 即得。

2.2.3 测定波长选择 取丹皮酚对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 20 μ g 的溶液, 作为丹皮酚对照品溶液。分别吸取供试品和对照溶液 10 μ L 注入液相色谱仪, 采集色谱图。用二极管阵列检测器, 于丹皮酚峰保留时间处, 在 210~400 nm 波长范

围内进行扫描。结果显示丹皮酚对照品和供试品在 274 nm 波长处有最大吸收, 最终选择测定波长为 274 nm, 结果见图 3。

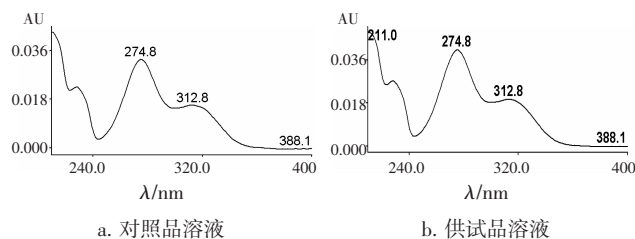


图 3 丹皮酚峰的光谱扫描图

Figure 3 PDA UV spectrum of paeonol

2.2.4 阴性对照试验 取牡丹皮阴性样品约 0.4 g, 精密称定, 按供试品溶液的制备方法制备牡丹皮阴性对照溶液, 依法进行测定, 牡丹皮阴性对照溶液色谱图中, 在与丹皮酚对照品色谱峰相应的位置上, 未见有色谱峰, 表明处方中的其他药味对测定无干扰, 结果见图 4。

2.2.5 线性关系考察 精密量取丹皮酚储备液(0.363

mg·mL⁻¹)50 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成丹皮酚对照品溶液 (181.5 μg·mL⁻¹)。分别精密吸取上述丹皮酚对照品溶液 1.0, 3.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得浓度分别为 3.63, 10.89, 18.15, 21.78, 29.04, 36.30 μg·mL⁻¹ 丹皮酚标准溶液, 取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 依法测定, 以对照品浓度 $X(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标, 峰面积积分值 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线。得线性方程: $Y=56416X-8259.3$, $r=0.9998$ 。结果表明丹皮酚浓度在 3.63 μg·mL⁻¹ ~36.30 μg·mL⁻¹ 范围内与其峰面积线性关系良好。

2.2.6 提取方法和提取溶剂考察 取双丹胶囊(批号: 120302)粉末约 0.4, 精密称定, 分别用不同提取溶剂(甲醇、80 %甲醇和 60 %甲醇)和不同提取方法(加热回流 1 h 和超声 30 min)处理。考察不同提取溶剂和提取方法对测定结果的影响。结果表明, 不同提取溶剂和提取方法被测组分含量的 RSD=1.58 %, 考虑到操作简便, 最终采用甲醇超声处理。

2.2.7 超声时间考察 取双丹胶囊同一批号(批号: 120203)内容物 10 份, 每份约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 分别超声 10, 20, 30, 40, 50 min, 制备供试液, 依法测定。结果表明, 样品在超声 10~50 min 时间内, 被测组分含量的 RSD=2.11 %, 表明超声时间 10 min 以上即可。为了能充分提取被测成分, 故将样品处理的超声时间定为 30 min。

2.2.8 稳定性试验 取供试品溶液, 在室温放置 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 后分别进样, 依法测定, 测得丹皮酚峰面积积分值的 RSD=1.7 % ($n=6$)。

2.2.9 重复性试验 取供试品溶液, 依法测定, 得每粒双丹胶囊中丹皮酚平均含量为 1.13 mg, RSD 为 1.5 % ($n=6$)。

2.2.10 加样回收试验 取已知含量样品粉末约 0.2 g, 精密称取共 6 份, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入丹皮酚对照品溶液(8.906 μg·mL⁻¹)50 mL, 称定质量, 按 2.2.2 项下方法制备供试液, 依法测定, 计算回收率。由表 1 可见, 丹皮酚平均回收率为 100.2 %, RSD=2.2 % ($n=6$)。

2.2.11 样品含量测定 分别取 3 个批号双丹胶囊按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算供试品中丹皮酚的含量。结果双丹胶囊批号为 120205, 120301, 120302 的 3 批样品中每粒胶囊中丹皮酚含量分别为 1.10, 1.10, 1.10 mg。

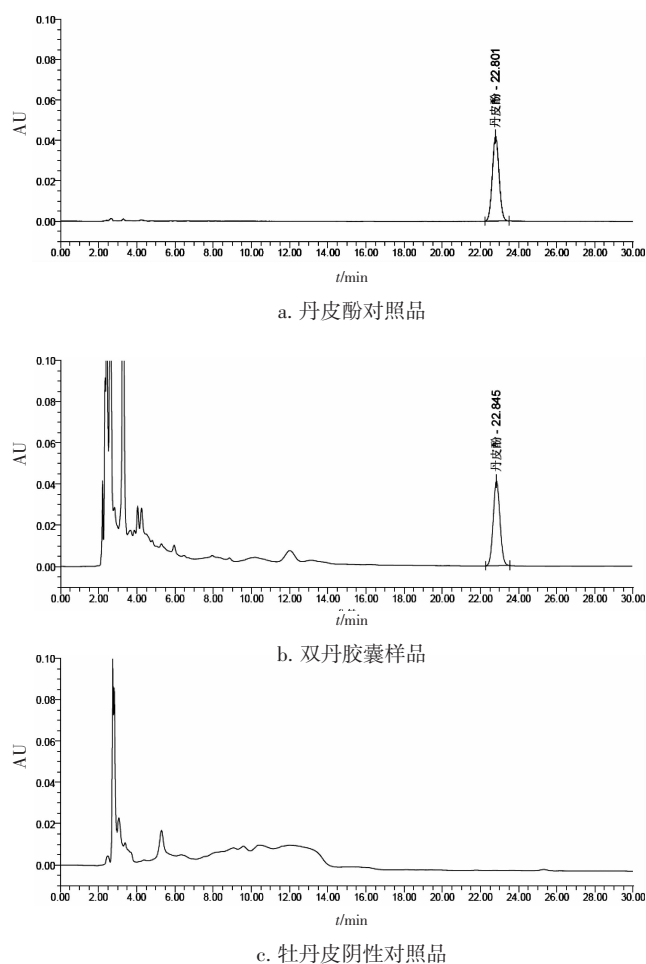


图 4 丹皮酚高效液相色谱图

Figure 4 HPLC chromatogram of paeonol

表 1 丹皮酚加样回收率试验(n=6)

序号	取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.2023	0.4627	0.4453	0.9124	100.76
2	0.1975	0.4527	0.4453	0.9027	101.06
3	0.2022	0.4635	0.4453	0.8978	97.53
4	0.1996	0.4575	0.4453	0.8936	97.93
5	0.2007	0.4600	0.4453	0.9204	103.39
6	0.1975	0.4527	0.4453	0.8995	100.34

2.3 丹参素含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱：phenomenex® Synergi Hydro-RP 80A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；流动相：甲醇-1 %冰乙酸 (5 : 95)；柱温：30 ℃；流速：1.0 mL·min⁻¹；检测波长：280 nm；进样量：10 μL；理论塔板数按丹参素峰计算应不低于 4000。

2.3.2 供试溶液的制备 取双丹胶囊(批号：120302)内容物 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50 %甲醇 20 mL，称定质量，超声处理(功率 250 W，频率 40 kHz)30 min，放冷，再称定质量，用 50 %甲醇补足减失质量，摇匀，即得。

2.3.3 测定波长选择 取丹参素钠对照品适量，精密称定，加 50 %甲醇制成每 1 mL 含 150 μg 的溶液(相当于每 1 mL 含丹参素 135 μg)，作为丹参素钠对照品溶液。分别吸取上述供试品和对照溶液 10 μL 注入液相色谱仪，采集色谱图。用二极管阵列检测器，于丹参素钠峰保留时间处，在 210~400 nm 波长范围内进行扫描。结果显示丹参素钠对照品和供试品在 280 nm 波长处有最大吸收，故最终选择测定波长为 280 nm，结果见图5。

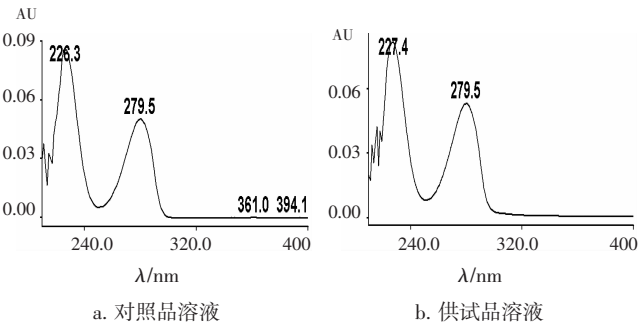


图 5 丹参素钠峰的光谱扫描图
Figure 5 PDA UV spectrum of salvianic acid A sodium

2.3.4 阴性对照试验 取丹参阴性样品约 0.2 g，精密称定，按供试品溶液的制备方法制备丹参阴性对照溶液，依法进行测定，丹参阴性对照溶液色谱图中，在与丹参素对照品色谱峰相应的位置上，未见有色

谱峰，表明处方中的其他药味对测定无干扰，结果见图 6。

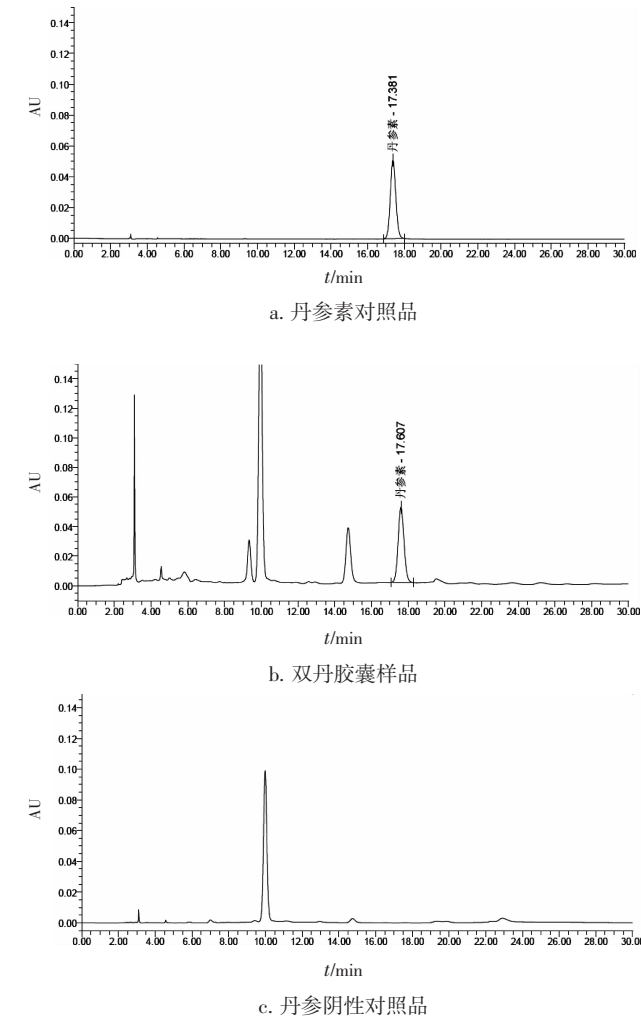


图 6 丹参素高效液相色谱图
Figure 6 HPLC chromatograms of tanshinol

2.3.5 线性关系考察 分别精密吸取浓度为 1.636 mg·mL⁻¹ 丹参素钠对照品溶液(相当于丹参素溶液 1.4724 mg·mL⁻¹)0.5, 1.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0 mL 于 25 mL 量瓶中，用 50 %甲醇稀释至刻度，即得浓度为 29.45, 58.90, 147.3, 176.7, 235.6, 294.5 μg·mL⁻¹ 的丹参素标准溶液，取 10 μL 注入高效液相色谱仪，依法测定，以对照品的浓度 X(μg·mL⁻¹)为横坐标，峰面积积分值 Y 为纵坐标，绘制标准曲线。得线性方程：Y=7710.3X-12369, r=0.9999。结果表明丹参素浓度在 29.45 μg·mL⁻¹ ~ 294.5 μg·mL⁻¹ 范围内与其峰面积线性关系良好。

2.3.6 提取方法和提取溶剂考察 取双丹胶囊(批号为 120302)内容物约 0.2 g，精密称定，分别用不同溶剂(75 %、50 %、25 %甲醇)和不同提取方法(加热回流 1 h 和超声 30 min)制备供试液，依法测定。结果表

明：不同提取溶剂和提取方法被测组分含量的 RSD=1.55 %，考虑到操作简便，最终采用 50 %甲醇超声处理。

2.3.7 超声时间考察 取双丹胶囊同一批号(批号为 120302)内容物 10 份，每份 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50 %甲醇 20 mL，分别超声 10，20，30，40，50 min，制备供试液，依法测定。结果表明：样品在超声 20 min~50 min 时间内，被测组分含量的 RSD=1.78 %，表明超声时间 20 min 以上即可。为了充分提取被测成份，故将样品超声时间定为 30 min。

2.3.8 稳定性试验 取供试品溶液，在室温放置 0，2，4，8，16，24 h 后分别进样，依法测定，测得丹参素峰面积积分值的 RSD=1.7 % (n=6)。

2.3.9 重复性试验 取供试品溶液，依法测定，得每粒双丹胶囊中丹参素平均含量为 7.02 mg，RSD 为 0.6 % (n=6)。

2.3.10 加样回收试验 取已知含量样品粉末约 0.1 g，精密称取共 6 份，置具塞锥形瓶中，分别精密加入丹参素钠对照品溶液 79.7690 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (相当于丹参素溶液 71.79209 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 20 mL，称定质量，按 2.3.2 项下方法制备供试液，依法测定，计算回收率，结果见表 2。丹参素平均回收率为 100.5 %，RSD= 0.9 % (n=6)。

表 2 丹参素加样回收率试验 (n=6)

Table 2 Results of recovery tests of tanshinol

序号	取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 %
1	0.1055	1.5014	1.4358	2.9456	100.59
2	0.1007	1.4331	1.4358	2.8907	101.52
3	0.1074	1.5284	1.4358	2.9811	101.18
4	0.1051	1.4957	1.4358	2.9176	99.03
5	0.1000	1.4231	1.4358	2.8643	100.38
6	0.1035	1.4729	1.4358	2.9128	100.29

2.3.11 样品含量测定 分别取 3 个批次双丹胶囊按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液，依法测定，计算供试品中丹参素的含量。结果批号为 120205，120301，120302 的 3 批双丹胶囊样品中丹参素的每粒含量分别为 7.10，7.00，7.00 mg。

2.4 丹酚酸 B 含量测定

2.4.1 色谱条件 Dikma Diamonsil® C₁₈(2) (250×4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇-乙腈-1.66 %甲酸水溶液(33 : 5 : 62)；柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ ；流速：1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；检测波长：286 nm；进样量：10 μL ；理论塔板数按丹酚酸 B 峰计算应不低于 3000。

2.4.2 供试液溶液的制备 取双丹胶囊(批号：120302)内容物 1.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 75 %甲醇 20 mL，称定质量，超声处理(功率 250 W，频率 40 kHz)30 min，放冷，再称定质量，用 75 %甲醇补足减失质量，摇匀，即得。

2.4.3 测定波长选择 取丹酚酸 B 对照品适量，精密称定，加 75 %甲醇制成每 1 mL 含 110 μg 的溶液，作为丹酚酸 B 对照品溶液。分别吸取上述供试品和对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪，采集色谱图。用二极管阵列检测器，于丹酚酸 B 峰保留时间处，在 210~400 nm 波长范围内进行扫描。结果显示丹酚酸 B 对照品和供试品在 286 nm 波长处有最大吸收，故最终选择测定波长为 286 nm，结果见图 7。

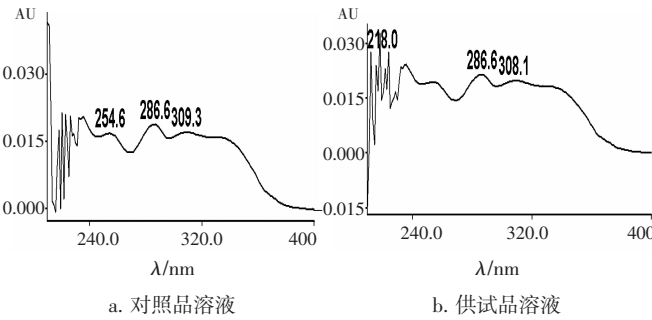


图 7 丹酚酸 B 峰的光谱扫描图

Figure 7 PDA UV spectrum of salvianolic acid B

2.4.4 阴性对照试验 取丹参阴性样品约 1.1 g，精密称定，按供试品溶液的制备方法制备丹参阴性对照溶液，依法进行测定，丹参阴性对照溶液色谱图中，在与丹酚酸 B 对照品色谱峰相应的位置上，未见有色谱峰，表明处方中的其他药味对测定无干扰。液相色谱图见图 8。

2.4.5 线性关系考察 分别精密量取丹酚酸 B 储备液(1.216 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 1.0，2.0，4.0，5.0，8.0，10.0 mL 于 50 mL 量瓶中，用 75%甲醇稀释至刻度，即得浓度为 24.32，48.64，97.28，121.60，194.60，243.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的丹酚酸 B 标准溶液，取 10 μL 注入高效液相色谱仪，依法测定，以对照品的浓度 X ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 为横坐标，峰面积积分值 Y 为纵坐标，绘制标准曲线。得线性方程：Y=9753.9X-31191，r=0.9998。结果表明丹酚酸 B 浓度在 24.32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ~243.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内与其峰面积线性关系良好。

2.4.6 提取方法和提取溶剂考察 取双丹胶囊(批号为 120302)内容物约 1.1 g，精密称定，分别用不同溶剂(90 %、75 %、50 %甲醇)和不同提取方法(加热回流 1 h 和超声 30 min)处理。考察不同溶剂和提取方法

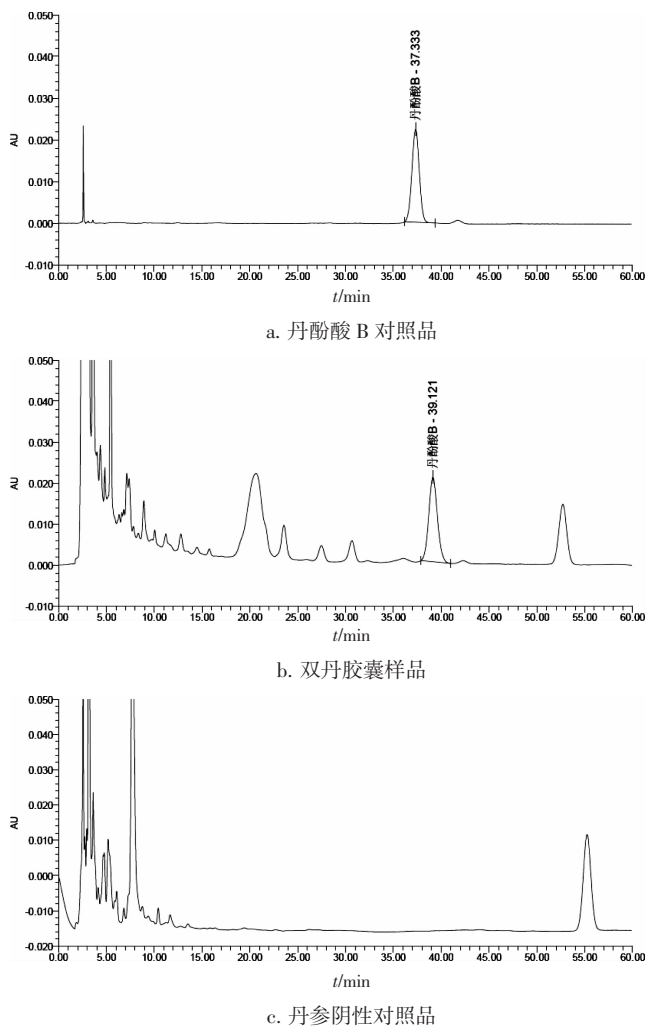


图 8 丹酚酸 B 高效液相色谱图
Figure 8 HPLC chromatograms of salvianolic acid B

对测定结果的影响。结果表明，用 75 % 甲醇超声处理的提取率比其他方法高 7 %~12 %，最终采用 75 % 甲醇超声处理。

2.4.7 超声时间考察 精密称取同一批号双丹胶囊(批号：120302)内容物 10 份，每份 1.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 75 % 甲醇 20 mL，分别超声 10，20，30，40，50 min，制备供试液，依法测定。结果表明：样品在超声 10 min~50 min 时间内，被测组分含量的 RSD=1.44 %，表明超声时间 10 min 以上即可，为了充分提取被测成分，故将样品超声时间定为 30 min。

2.4.8 稳定性试验 取同供试品溶液，在放置 0，2，4，8，16，24 h 后分别进样，依法测定，结果丹酚酸 B 峰面积积分值的 RSD=1.4 % (n=6)。

2.4.9 重复性试验 取供试品溶液，依法测定，得每粒双丹胶囊中的丹酚酸 B 平均含量为 1.24 mg，RSD 为 0.7 % (n=6)。

2.4.10 加样回收试验 取已知含量的样品粉末约 0.55 g，精密称取共 6 份，置具塞锥形瓶中，分别精密加入丹酚酸 B 对照品溶液 (66.88 μg·mL⁻¹) 20 mL，称定重量，按 2.4.2 项下方法制备供试液，依法测定，计算回收率，结果见表 3。丹酚酸 B 平均回收率为 100.45 %，RSD= 2.88 % (n=6)。

表 3 丹酚酸 B 加样回收率试验 (n=6)

Table 3 Results of recovery tests of salvianolic acid B

序号	取样量 /g	样品含量 /g	加入量 /g	测得量 /g	回收率 /%
1	0.5586	1.374	1.338	2.660	96.11
2	0.5586	1.374	1.338	2.680	97.61
3	0.5576	1.372	1.338	2.740	102.24
4	0.5636	1.388	1.338	2.740	101.05
5	0.5629	1.385	1.338	2.760	102.77
6	0.5725	1.423	1.338	2.800	102.91

2.4.11 样品含量测定 分取 3 个批次双丹胶囊按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液，依法测定，计算供试品中丹酚酸 B 的含量。结果双丹胶囊批号为 120205，120301，120302 的 3 批样品中丹酚酸 B 的每粒含量分别为 1.25，1.25，1.27 mg。

3 讨论

牡丹皮虽然为方中的臣药，但其能协助丹参增强活血散瘀止痛的功效，在原有标准基础上增加牡丹皮的含量测定能更好的反映双丹胶囊的内在质量。本文用 3 种特征成分作为质控指标，高于双丹胶囊现行的质量标准。

对双丹胶囊中丹参进行薄层鉴别研究，以丹参素和丹酚酸 B 为指标，参考相关标准^[4]展开后，发现丹参素斑点扩散严重；并且丹酚酸 B 按《中华人民共和国药典》^[5]中的方法试验后发现色谱图背景干扰大，这两种方法均达不到理想要求。后改用酸水提取，再用乙酸乙酯萃取，三氯化铁乙醇溶液作为显色剂，日光下观察效果较好，专属性强，并能同时检测丹参素和丹酚酸 B 这两种成分，简化了操作的步骤。

参照《中华人民共和国药典》^[5]丹酚酸 B 的含量测定，在流动相的选择中，曾考察不同比例的甲醇-乙腈-1.66 % 甲酸水溶液 (30 : 8 : 62，31 : 7 : 62，32 : 6 : 62，33 : 5 : 62)，结果表明比例为 33 : 5 : 62 时，丹酚酸 B 与其他组分能达到基线分离，阴性无干扰，其他比例条件下，峰形都有不同程度的拖尾现象。在色谱柱的筛选上，对比了多根 C₁₈ 色谱柱后，也发现丹酚酸 B 峰形拖尾现象，而 Dikma Diamonsil® C₁₈ (2) 峰形相对较佳，也能达到分离度和对称性的要求。

综上, 本实验的定性、定量方法准确、简便, 为双丹胶囊质量标准的提高提供科学的依据。

参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品标准(试行)[S]. WS3-137(X-137)-2003(Z).
- [2] 葛志伟, 贺庆, 水文波, 等. HPLC 测定双丹颗粒中丹酚酸 B 和芍

药苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 1062.

- [3] 李正国, 郭凡岭, 张爱琴. RP-HPLC 测定双丹颗粒中丹参素和原儿茶醛含量. 药物分析杂志, 2004, 24(5): 558.
- [4] 国家药品监督管理局. 国家药品标准(试行)[S]. WS3-134(Z-134)-2003(Z).
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 70.

(编辑: 修春)

通脑溶栓胶囊的质量标准研究

窦建卫¹, 袁倩倩¹, 宋海林¹, 陈茹茹², 朱少英¹, 杨学礼³(1. 西安交通大学医学部药学院, 陕西 西安 710061; 2. 陕西中医学院, 陕西 西安 712046; 3. 西安洲良明康生物医药科技有限公司, 陕西 西安 710075)

摘要: **目的** 建立通脑溶栓胶囊的质量控制方法。**方法** 采用薄层色谱法对制剂中的粉葛、黄芪、鸡血藤和赤芍进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法对制剂中的粉葛所含成分葛根素进行含量测定。色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(25:75); 检测波长: 250 nm。**结果** 在薄层色谱中均能检出粉葛、黄芪、鸡血藤和赤芍; 葛根素进样量在 0.06784~0.40704 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率为 98.9 % ($n=6$), RSD 为 1.1 %。**结论** 本研究所建立的方法简便, 准确, 重复性好, 可用于通脑溶栓胶囊的质量控制。

关键词: 通脑溶栓胶囊; 质量标准; 薄层鉴别; 高效液相色谱法; 葛根素

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0061-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.016

Study on Quality Standard of Tongnao Rongshuan Capsule

DOU Jianwei¹, YUAN Qianqian¹, SONG Hailin¹, CHEN Ruru², ZHU Shaoying¹, YANG Xueli³(1. College of Medical Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061 Shanxi, China; 2. Shanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046 Shanxi, China; 3. Xi'an Zhouliang Mingkang Biomedical Science and Technology Co.Ltd, Xi'an 710075 Shanxi, China)

Abstract: **Objective** To establish a quality standard for Tongnao Rongshuan Capsule. **Methods** Radix Puerariae, Radix Astragali, Caulis Spatholobi and Radix Paeoniae were identified by thin layer chromatography(TLC). Puerarin was determined by high performance liquid chromatography(HPLC). The HPLC system consisted of chromatographic column C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm) with methanol - water(25 : 75) as the mobile phase, and the detective wave length was set at 250nm. Results Radix Puerariae, Radix Astragali, Caulis Spatholobi and Radix Paeoniae can be detectable by TLC. The linearity range of puerarin was 0.06784~0.40704 μg($r=0.9998$), the average recovery was 98.9 % , and RSD was 1.1 % ($n=6$). **Conclusion** The established method is simple, accurate and with good reproducibility, and can be used for the quality control of Tongnao Rongshuan Capsule.

Keywords: Tongnao Rongshuan Capsule; Quality standard; Thin layer chromatography; High performance liquid chromatography; Puerarin

收稿日期: 2013-06-25

作者简介: 窦建卫, 男, 副教授, 研究方向: 中药新药研发。Email: djw@mail.xjtu.edu.cn。通讯作者: 杨学礼, 男, 主管药师, 主要从事中药新药研发工作。Email: yxueli1921@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(30300444); 科技部中小企业技术创新基金(12C26216106788)。