

· 中药工业 ·

银丹心脑血管通软胶囊定量质量控制提升研究[△]

宋军妹¹, 惠权斌¹, 吕文英², 成龙^{3*}

(1. 陕西宝鸡市人民医院, 陕西 宝鸡 721000;

2. 北京市东城区朝阳门社区卫生服务中心, 北京 100061; 3. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100093)

[摘要] 目的: 探索中药复方多指标成分质控方法, 以银丹心脑血管通软胶囊为研究对象, 进行中药质量标准提升研究。方法: 采用 HPLC、UPLC-PDA 方法, 多波长检测, 同时完成了多指标成分的定量测定。结果: 该方法简单、快捷灵敏, 可作为银丹心脑血管通软胶囊质量控制方法。结论: HPLC 多波长同时测定中药复方多指标成分具有可行性和应用价值。

[关键词] 中药质量评价; 银丹心脑血管通软胶囊; 高效液相色谱; 质量标准

Study on Multiple Active Ingredients Quantitative Control of Yindanxinaotong Capsule

SONG Junmei¹, HUI Quanbin¹, LYU Wenying², CHENG Long^{*}

(1. The Hospital of Baoji people, Baoji Shanxi 721000, China;

2. Community health central of Chaoyanmen, Beijing 100061, China;

3. The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100093, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the quality control method of multi-index active ingredients of traditional Chinese medicine compound, and improve quality control standard of Yindanxinaotong capsule. **Methods:** UPLC、UPLC-PDA with multi-wavelength detection method was used to analyze the multi-compounds. Rutin, scutellarin and phenolic acid B was determined simultaneously. **Results:** The method was simple and rapid, and it could be used as one of the methods for quality control of Yindanxinaotong capsule. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reliable and not only enables the simultaneous determination of the content of the rutin, scutellarin and phenolic acid B in Yindanxinaotong capsule, but also provides a simple and feasible quality evaluation method for traditional Chinese medicine compound.

[Keywords] Quality evaluation of the traditional Chinese medicine compound; Yindanxinaotong capsule; HPLC; quality standard

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.023

药品的质量控制是一个综合体系,但其模式不外乎感官评价、生物评价和化学评价。对于目前我国中药的质量控制而言,主流还是化学评价和感官评价,生物评价近年来得到了业界的高度重视。中药复方有效成分和指标成分的含量测定是中药复方质量控制和评价的有效手段之一,其有助于提高质量评价的科学性和合理性。银丹心脑血管通软胶囊是治疗冠心病心绞痛、高脂血症和动脉粥样硬化、中风后遗症等心脑血管疾病的中药大品种,具有一定临床治疗价值和优势^[1-4]。探索与其功能、主治直接相

关的有效成分化学质量控制和生物活性评价对于有效地进行全过程质量控制系统,提升质量标准,确保临床疗效的一致性十分重要,并且需求迫切。银丹心脑血管通软胶囊指纹图谱研究表明,芦丁、野黄芩苷和丹酚酸 B 含量较高^[5-6],芦丁主要来源于银杏叶,野黄芩苷和丹酚酸 B 分别来源于灯盏细辛和丹参,因此本实验采用 UPLC-PDA 对多批银丹心脑血管通软胶囊中芦丁、野黄芩苷和丹酚酸 B 进行测定,以此作为银丹心脑血管通软胶囊质量控制的企业内控标准。

[△] [基金项目] 重大新药创制子课题(2012ZX09201201-003)

* [通信作者] 成龙,高级工程师,研究方向:中药药代动力学及新药开发;E-mail:13581972102@139.com

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ACQUITY UPLC(美国 Waters 公司, 包括四元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower2 色谱工作站); Millipore 超滤仪; TU-1901 紫外分光光度计(北京普析通用仪器公司, UV Win5 工作站); METTLER TOLEVO 十万分之一电子天秤; HT-300 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); TGL-16G 高速离心机(湖南恒诺仪器有限公司)。

1.2 试剂

芦丁(成都克洛玛生物科技有限公司, 批号: 130915); 丹酚酸 B(成都克洛玛生物科技有限公司, 批号: 131112); 野黄芩苷(上海源叶生物科技有限公司, 批号: YY20110513); 甲酸为分析级; 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其余试剂为分析纯。

银丹心脑血管软胶囊贵州百灵企业集团制药股份有限公司生产, 样品批次见表 1。

表 1 银丹心脑血管软胶囊样品批次

批次	批号	生产日期
S1	20140401	20140409
S2	20140402	20140411
S3	20140403	20140413
S4	20140404	20140415
S5	20140405	20140417
S6	20140406	20140419
S7	20140407	20140421
S8	20140408	20140424
S9	20140409	20140426
S10	20140410	20140428

2 方法

2.1 供试品溶液制备

银丹心脑血管软胶囊分别去外壳, 称取内囊物 0.2 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶, 加 75% 甲醇 25 mL, 超声提取(90 W, 40 KHz, 30 ℃)30 min, 8000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 定容至 25 mL 容量瓶中, 过 0.22 μm 尼龙滤膜(津腾)即为供试品溶液。

2.2 对照品溶液制备

分别精密称取芦丁、野黄芩苷 2.0、5.0 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 加少量甲醇超声溶解后用甲醇

定容至刻度; 精密称取丹酚酸 B 2.0 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 加少量 75% 甲醇超声溶解后用 75% 甲醇定容。

2.3 色谱方法

ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 流动相 0.5% 甲酸水(A)-0.5% 甲酸乙腈(B), 梯度洗脱, 见表 2。流速: 0.49 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 255 nm、333 nm、286 nm, 色谱图见图 1。

表 2 梯度洗脱表

时间/min	A(%)	B(%)
0~1.62	90~83	10~17
1.62~5.50	83~77	17~23
5.5~7.0	77	23
7.0~10.0	77~72	23~28
10.0~12.0	72~50	28~50
12.0~13.0	50~45	50~55
13.0~14.0	45~40	55~60
14.0~16.0	40~30	60~70
16.0~18.0	30~27	70~73
18.0~20.0	27~25	73~75
20.0~21.0	25~0	75~100

3 结果与讨论

3.1 线性关系考察

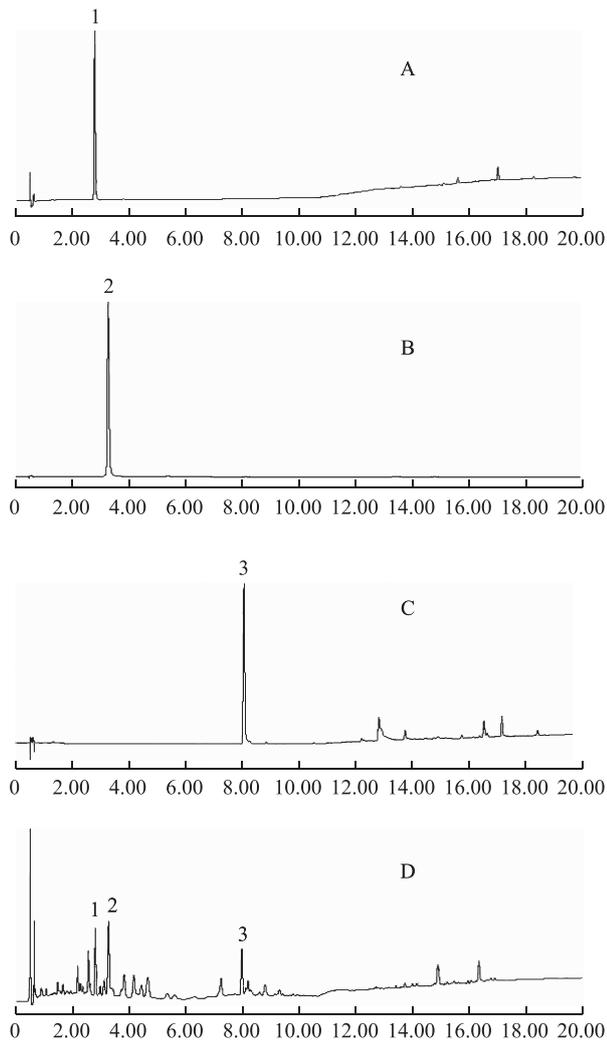
取芦丁、野黄芩苷对照品溶液, 分别稀释 6、8、10、15、20 倍; 取丹酚酸 B 对照品溶液稀释 4、6、8、10、20 倍。按照上述色谱条件进样, 进样 5 μL。以峰面积积分(Y)对浓度(X)进行线性回归, 得到 3 种化合物的回归方程、相关系数见表 3。

表 3 芦丁、野黄芩苷、丹酚酸 B 三种成分的线性回归方程

成分	回归方程	r	线性范围/mg·L ⁻¹
芦丁	$Y=2.47 \times 10^9 X - 290.7$	0.999 4	0.033~0.010
野黄芩苷	$Y=4.18 \times 10^9 X + 131.0$	0.998 5	0.025~0.083
丹酚酸 B	$Y=9.17 \times 10^9 X - 17 249.8$	0.999 5	0.010~0.050

3.2 精密度试验

精密称取供试品 S1 0.2 g, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样体积为 5 μL, 计算峰面积的相对标准偏差。结果显示, 供试品溶液各指标成分的 RSD 分别为 2.61%、3.11%、4.98%, 均小于 5%, 表明精密度良好。



注: 1. 芦丁; 2. 野黄芩苷; 3. 丹酚酸 B; A. 芦丁对照品 (255 nm); B. 野黄芩苷对照品 (333 nm); C. 丹酚酸 B 对照品 (286 nm); D. 供试品。

图1 超高压液相色谱图

3.3 稳定性试验

精密称取供试品 S1 0.2 g, 制备供试品溶液, 按照上述条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 时进样 5 μL , 计算峰面积的相对标准偏差。结果显示, 供试品溶液各指标成分的 RSD 分别为 2.88%、3.46%、3.31%, 均小于 5%, 表明供试品在 24 h 内各成分均稳定。

3.4 重复性试验

分别精密称取 6 份供试品 S1, 每份 0.2 g, 制备 6 份供试品溶液, 按照上述条件进样, 每次进样体积为 5 μL , 计算峰面积的相对标准偏差。结果显示, 供试品溶液各指标成分的 RSD 分别为 3.78%、4.66%、1.97%, 表明重复性良好。

3.5 加样回收率试验

称取已知含量的同一批次样品 S1 6 份, 每份 0.1 g, 精密称定, 每份样品加入芦丁、野黄芩苷和丹酚酸 B 对照品溶液, 加入与待测样品中三种成分量比为 1:1。然后按照供试品制备方法制备供试品溶液, 按照色谱方法进行进样, 进样量为 5 μL , 计算加样回收率, 结果见表 4。

表 4 不同化合物的回收率试验 ($n=6$)

化合物	供试品 含量/mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
芦丁	0.22	0.22	0.443	101.4	100.08	2.22
	0.22	0.22	0.440	100.0		
	0.22	0.22	0.443	101.4		
	0.22	0.22	0.433	96.8		
	0.22	0.22	0.446	102.7		
野黄芩苷	0.60	0.60	1.170	95.0	97.78	2.79
	0.60	0.60	1.190	98.3		
	0.60	0.60	1.200	100.0		
	0.60	0.60	1.210	101.7		
	0.60	0.60	1.170	95.0		
丹酚酸 B	0.60	0.60	1.180	96.7	97.85	1.17
	0.55	0.55	1.083	97.1		
	0.55	0.55	1.094	98.9		
	0.55	0.55	1.088	98.0		
	0.55	0.55	1.906	99.3		
0.55	0.55	1.079	96.2			
0.55	0.55	1.087	97.6			

3.6 样品测定结果

分别精密称取不同批次的银丹心脑血管软胶囊内囊液 0.2 g, 制备待测样品, 测定待测样品中各成分的含量, 结果见表 5。

表 5 银丹心脑血管软胶囊多成分含量测定结果

批次	$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		
	芦丁(255 nm)	野黄芩苷(333 nm)	丹酚酸 B(286 nm)
S1	2.190	6.031	5.500
S2	1.670	5.395	3.730
S3	1.800	5.480	5.100
S4	1.995	5.975	5.600
S5	2.060	6.100	5.525
S6	1.940	5.580	4.425
S7	1.530	4.495	3.315
S8	1.595	5.260	3.540
S9	2.015	5.880	4.745
S10	1.965	6.710	5.535

3.7 结论与讨论

十二五以来,我国力推的国家药品标准提高行动计划,旨在加强中药标准化建设,完善技术标准体系,努力将我国中医药优势技术提升为国际标准。银丹心脑血管通软胶囊源于苗族治疗心脑血管病的经验方,由银杏叶、丹参、灯盏细辛、绞股蓝、山楂、大蒜、三七、艾片等药物组成。因其最早是地方药品标准上升为国家药品标准的,标准编号为国家药品标准(试行) [WS-11332(ZD-1332)-2002],研究基础较为薄弱,含量测定项下仅有丹参水溶性成分丹参素的定量质控^[7]。在2011年标准转正研究过程中,参照银杏叶的定量质控经验和标准,国家药品标准 [WS-11332(ZD-1332)-2002-2011Z] 中增加了对银杏叶总黄酮醇苷的定量测定^[8-9],目前银丹心脑血管通软胶囊质量标准已被《中华人民共和国药典》2015版一部收载。

在完成银丹心脑血管通软胶囊主要活性组分的体内过程研究后,针对含量较高的主要心血管活性成分进行了定量质控研究。本研究采用UPLC建立了银丹心脑血管通软胶囊中芦丁、野黄芩苷、丹酚酸B三种成分的含量测定方法,该方法准确、快速、灵敏,对10批不同生产日期的样品进行了测定,结果稳定可靠。本方法既提供了一种快速、准确、重复性好、分离度高的方法,又可为全面控制银丹心脑血管通软胶囊质量提供参考,确保其临床疗效的可靠性与一致性。该质控方法纳入企业内控质量体系,确保产品安全、有效和质量可控,对促进大中药产业的良性互动式发展具有积极的示范意义。

参考文献

[1] 吴利平. 银丹心脑血管通软胶囊与步长脑心通胶囊治疗短暂

- 性脑缺血发作疗效比较[J]. 中成药, 2009, 31(3): 348-349.
- [2] 王欣, 刘玥, 成龙, 等. 银丹心脑血管通软胶囊治疗心脑血管疾病临床疗效的 Meta 分析[J]. 中国循证医学杂志, 2017, 17(4): 429-439.
- [3] Cheng L, Liu Y, Sun X. The Clinical Efficacy of Yindanxinnaotong Soft Capsule in the Treatment of Stroke and Angina Pectoris: A Meta-Analysis[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017, 2017: 2060549.
- [4] Wang J, Wang L, Yang H, et al. Prevention of atherosclerosis by Yindan Xinnaotong capsule combined with swimming in rats[J]. BMC complementary and alternative medicine, 2015, 15(1): 109.
- [5] Wang W, Wang L, Yang H, et al. Protective effects of yindanxinnaotong capsule in a rat model of myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Journal of traditional Chinese medicine, 2014, 34(6): 699-709.
- [6] Gong L, Haiyu X, Wang L, et al. Identification and evaluation of the chemical similarity of Yindan xinnaotong samples by ultra high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry fingerprinting[J]. Journal of separation science, 2016, 39(3): 611-622.
- [7] 张伟. 关于中国药品标准化战略若干问题的思考[J]. 中国药品标准, 2014, 15(1): 3-9.
- [8] 施惠华. 银丹心脑血管通软胶囊联合尼莫地平治疗颈性眩晕[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(11): 1361-1362.
- [9] 赵性泉, 王新高, 周德生, 等. 银丹心脑血管通软胶囊治疗脑梗死恢复期的疗效观察和评价[J]. 中华中医药学刊, 2017(6): 1351-1354.
- [10] 董慧芳, 张静茹, 张美妮. 银丹心脑血管通软胶囊辅助治疗急性脑梗死随机对照试验的 Meta 分析[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(2): 161-166.
- [11] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 416.

(收稿日期 2017-05-09)