

复方参芪冲剂质量标准的研究

苗抗立, 印杰, 戴佩芳 (复旦大学附属中山医院药剂科, 上海 200032)

摘要:目的 建立复方参芪冲剂的质量标准。方法 采用薄层色谱法对复方参芪冲剂中的黄芪、苦参、炙甘草进行定性鉴别; 经香草醛-冰醋酸显色后, 用分光光度法测定制剂中总皂苷的含量。结果 线性范围为 $8.3 \sim 41.6 \mu\text{g}$, $r=0.9996$, 平均回收率 97.67% , $\text{RSD}, 2.37\%$ ($n=5$)。结论 该定性方法专属性强, 定量方法操作简便快速, 结果准确可靠, 适用于复方参芪冲剂质量控制。

关键词: 复方参芪冲剂; 香草醛-冰醋酸比色法; 总皂苷; 黄芪甲苷; 芒柄花素; 苦参碱; 氧化苦参碱

中图分类号: R926.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)07-0660-03

Study on quality standards for Fufangshenqi Granules

MIAO Kang-li, YIN Jie, DAI Pei-fang (Department of Pharmacy, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality standards for Fufangshenqi Granules. **METHODS** Radix Astragali, Radix Sophorae Flavescentis and Radix Glycyrrhizae in Fufangshenqi Granules were identified with TLC; Total saponin in Fufangshenqi Granules was determined by spectrophotometry. **RESULTS** The linear range was $8.3 \sim 41.6 \mu\text{g}$ and the correlation coefficient was $r = 0.9996$. The average recovery rate was 97.67% and RSD was 2.37% ($n=5$). **CONCLUSION** These methods are simple, speed and specific. The results were reliable and accurate. The method can be used for the quality control of Fufangshenqi Granules.

KEY WORDS: Fufangshenqi Granules; colorimetry of vanillin-glacial acetic acid; total saponin; astragaloside IV; formononetin; matrine; oxymatrine

复方参芪冲剂是我科与上海市心血管研究所共同研制, 我院用于综合治疗病毒性心肌炎有效药物之一。经 10 多年临床疗效观察, 对病毒性心肌炎有抗病毒、调节免疫功能, 抗心律失常, 改善心脏功能。复方参芪冲剂由黄芪、苦参和炙甘草三味中药组成, 具有益气, 清热解暑功效。黄芪为方中君药, 总皂苷为主要的活性成分。为保证复方参芪冲剂的质量, 我们对制剂工艺进行考核, 采用薄层色谱法对复方参芪冲剂中黄芪、苦参、炙甘草进行定性鉴别, 用分光光度法测定黄芪甲苷的含量, 建立了该制剂的质量标准。

1 实验材料

753BI 紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂); CQ50 超声波清洗器(上海超声波仪器厂); H. H. S 电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂); 硅胶板 GF₂₅₄, 高效板 HSGF₂₅₄(青岛海洋化工厂); DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck 公司); 黄芪甲苷、苦参碱、氧化苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所); 芒柄花素对照品(ICC 公司); 所用试剂均为分析纯, 水为重蒸水。供试样品和对照药材(制剂外加工)由上海实业联合集团药业有限公司提供(批号: 020313, 030101, 030201, 030301)。

2 鉴别

2.1 黄芪的鉴别

取复方参芪冲剂 5g 研成粉末,用正丁醇超声波提取三次(20,20,10mL)每次 30min,过滤,合并正丁醇提取液,用氨试液提取三次(10,10,8mL),正丁醇液减压蒸干,残渣用无水乙醇 1mL 溶解后作为供试品溶液。按处方从中除去黄芪,按供试品制备方法制得阴性对照溶液。另取黄芪 10g,按同法制备对照药材溶液。取黄芪甲苷对照品加无水乙醇液制成每毫升含 0.5mg 的溶液作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 3μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(65:35:10 下层液)为展开剂,展开至离薄层板前沿 3mm,取出凉干,用碘蒸气显色。供试品色谱中,在与对照品与黄芪药材色谱相应位置上显棕色斑点,阴性对照在相应位置上无斑点。

2.2 苦参的鉴别

取黄芪鉴别项下供试品溶液作为供试品溶液。按处方从中除去苦参,按供试品制备方法制得阴性对照溶液。另取苦参对照药材 2g,按同法制备对照药材溶液。取苦参碱和氧化苦参碱对照品分别加无水乙醇液制成每毫升含 0.2mg 的溶液作为对照品溶液。吸取上述 5 种溶液各 3μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以氯仿:甲醇:水(30:6:0.5)为展开剂,展开至离薄层板前沿 3mm,取出凉干,喷碘化铋钾试剂,供试品色谱中,在与对照品与苦参药材色谱相应位置上显橙色的斑点。阴性对照在相应的位置上无斑点。

2.3 芒柄花素的鉴别

该处方中三味药均为豆科植物,经文献检索都含有芒柄花素成分。分别取黄芪、苦参、炙甘草对照药材溶液作为对照药材溶液。取芒柄花素对照品,加无水乙醇制成每毫升含 0.2mg 的溶液作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 3μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以氯仿-甲醇-冰醋酸(20:2:1)为展开剂,展开至离薄层板前沿 3mm,取出凉干,用碘蒸气显色,对照药材色谱中,在与对照品色谱相应位置上显棕色斑点。

3 含量测定

3.1 供试品及对照品溶液的制备 取复方参芪冲剂适量,研细,精密称取 10g,加水饱和正丁醇 70℃ 水浴浸泡 1h,用超声波提取三次(50,20,20mL)每次 30min,合并滤液,加氨试液提取二次(50,50mL),正丁醇液减压蒸干,用无水乙醇溶解,定容至 10mL,作为供试品溶液。精密称取黄芪甲苷对照品 1mg,加无水乙醇定容至 10mL,作为对照品溶液。

3.2 测定方法 精密吸取待测定液置于具塞试管中,水浴加热挥去溶剂,分别加入 0.2mL 5% (w/v) 香兰醛冰醋酸溶液及 0.8mL 高氯酸溶液,置 65℃ 水浴加热 15min,取出立即冷却至室温,精密加入冰醋酸 5mL,摇匀后进行测定,以显色剂为空白对照。

3.3 测定波长的选择 精密吸取对照品溶液(100μg/mL)及供试品溶液各 0.2mL,按 3.2 方法操作,在 550~650nm 处进行扫描,供试品溶液与对照品溶液的吸收光谱一致,其最大吸收波长均为 565nm,故选用 565nm 作为检测波长。

3.4 线性关系考察 精密吸取上述对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5mL 分别置于具塞试管中,按 3.2 方法操作,在 565nm 处测定吸收度。回归方程为 $C = 1.2376 + 298.5998A$, $r = 0.9996(n = 5)$,结果表明,样品浓度在 8.3~41.6μg 范围内测定,线性关系良好。

3.5 显色稳定性 取黄芪甲苷对照品及黄芪药材溶液,按 3.2 方法操作,显色后室温放置,每隔 10min 测定一次,样品在 2h 内显色稳定。RSD = 0.85% (n = 8)。

3.6 精密度试验 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 2mL,按 3.2 方法操作,连续测定 5 次,RSD = 0.11%。

3.7 重复性试验 取批号 030101 复方参芪冲剂适量,研细,精密称取 10g 共 5 份,按供试液制备方法制备,分别按样品测定方法测定,测得平均含量为 0.7071mg/mL, RSD = 1.46%。

3.8 样品测定 精密吸取供试品溶液各 0.2mL,按 3.2 方法操作并测定复方参芪冲剂总皂苷含量,结果见表 1。

表 1 复方参芪冲剂含量测定结果 (n = 3)

Tab 1 The results of sample assay (n = 3)		
批号	总皂苷含量 mg/mL	RSD (%)
020313	0.7154	0.82
030101	0.7071	
030201	0.7270	
030301	0.7162	

3.9 回收率试验 精密吸取已知总皂苷含量的供试品溶液(批号 030101)5 份,各 0.2mL,分别置于具塞试管中,分别加入对照品溶液(浓度为 100μg/mL)适量,按 3.2 方法操作并测定,计算其回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率测定结果 (n = 5)

Tab 2 The experiment of recovery (n = 5)						
序号	样品含量 mg/mL	加入量 mg/mL	测得量 mg/mL	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.7071	0.0499	0.7456	98.50	97.67	2.37
2	0.7071	0.0499	0.7399	97.74		
3	0.7071	0.0998	0.7870	97.53		
4	0.7071	0.0998	0.7868	97.51		
5	0.7071	0.0998	0.7834	97.09		

4 结论与讨论

4.1 复方参芪冲剂为复方制剂,处方中黄芪为君药,确定定量指标时,应对君药进行含量测定的考察,同时复方参芪冲剂中含有各种皂苷成分为其有效部位,因此通过测定其皂苷成分可以有效地控制该制剂的质量。实验结果表明,采用香草醛—冰醋酸作为显色试剂,显色灵敏度较高,方法重现性好,快速简便,且可以广泛使用于医院制剂的快速质量分析,同时也是较理想的总皂苷定量方法。

4.2 采用薄层色谱法鉴别复方参芪冲剂中的成分,方法简便,专属性强。试验过程中对文献报导的分离方法及多种展开剂进行比较,最终确定文章所述的分离方法及展开剂。

4.3 黄芪、炙甘草中含有大量多种三萜类皂苷,由于这类化合物缺少特殊功能团,给其含量测定带来一定的难度,根据

三萜、甾体和皂苷对香草醛-冰醋酸特殊的显色反应,采用分光光度法对总皂苷进行含量测定,对制定质量标准提供参考依据。

4.4 在香草醛-冰醋酸比色加热显色反应过程中,应严格控制水浴温度 $65^{\circ}\text{C} \pm 1$,加热时间 15min;另外 5% 香草醛冰醋酸液必须临用前新鲜配制,否则显色灵敏度下降而影响测定的结果。

参考文献

- [1] 苗明三,李振国.现代实用中药质量控制技术[M].北京:人民卫生出版社,2000:281,635,890.
- [2] 陆一心.黄芪甲苷定量方法的研究.中成药,1996,18(2):38.

收稿日期:2005-01-30