舒心合剂质量控制方法的研究

黄东燕,罗梓河,黄俊斌(汕头市中心医院,广东 汕头 515031)

摘要:目的 建立舒心合剂的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法鉴别黄芪、三七和赤芍;运用紫外-可见分光光度法测定总皂苷的含量。结果 薄层色谱方法简便、专属性强、重复性好;含量测定结果准确,人参皂苷 Re 平均回收率为 102.2% (RSD=1.0%, n=6)。结论 本方法可有效控制舒心合剂的质量。

关键词:舒心合剂;黄芪;三七;赤芍;总皂苷;质量标准

中图分类号: R926.23 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)08-0696-03

Study on Quality Control and Preparation for Shuxin Mixture

HUANG Dong - yan, LUO Zi - he, HUANG Jun - bin(Shantou Central Hospital, Shantou 515031, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the effective methods for the quality control of Shuxin Mixture. **METHODS** The Radix Astragali and Radix et Rhizoma Notoginseng, Radix Paeoniae Rubra were identified by TLC. The contents of total saponins were determined by UV. **RESULTS** The TLC methods were strong specificity and good reproducibility. The contents of ginsenosides Re was determined by UV which was accurate with the average recovery of 102.2% (RSD=1.0%, n=6). **CONCLUSION** These methods can be used to control the quality of Shuxin Mixture effectively.

KEY WORDS: Shuxin Mixture; Radix Astragali; Radix et Rhizoma Notoginseng; Radix Paeoniae Rubra; total saponins; quality standard

舒心合剂是我院协定处方,由黄芪、党参、三七、丹参、赤芍组成,功能活血化瘀、补气。用于冠心病、心绞痛等。多年临床验证,疗效显著,为有效控制产品质量,本研究建立薄层色谱法进行定性鉴别,用紫外-可见分光光度法测定制剂中总皂苷的含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UV-1601型紫外-可见分光光度计(日本岛津),大孔吸附树脂(D-101净品型,批号:030510,天津市海光化工有限公司),80-2离心机(上海手术器械厂),HH-W21·C160 II型电子恒温三用水箱(广东省汕头市医用设备厂),PBQ-II型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂)。

1.2 试剂

人参皂苷 Re、黄芪甲苷、人参皂苷 Rg (供含量测定用,批号分别为 0754-9506、0781-9505、0703-9914,中国药品生物制品检定所),人参皂苷 Rb₁ (供鉴别用,批号:0704-9508,中国药品生物制品检定所)三七、赤芍对照药材(批号分别为 120941-200304、121093-200402,中国药品生物制品检定所);硅胶 G(化学纯,青岛海洋化工有限公司),水为注射用水,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯;舒心合剂为本院制

剂室生产(粤 Z20070032,批号:050614、060214、060420)。

2 处方和制备

2.1 处方

黄芪 300 g 党参 150 g 三七 100 g 丹参 300 g 赤芍 150 g 白糖 200 g 苯甲酸 2 g 共制成 1 000 mL。

2.2 制法

取三七润软切片,余药洗净,加水过药面,冷浸 0.5 h,煎煮二次,第一次 2 h,第二次 1.5 h,合并滤液,浓缩至约 700 mL,加乙醇使含醇量达 70%,放置 24 h 以上,过滤,回收乙醇,加白糖溶解,加水至足量,煮沸,加苯甲酸搅匀,放凉,过滤,分装,即得。

3 质量控制

3.1 性状

本品为棕色液体,味微苦涩,带甜。

3.2 定性鉴别

3.2.1 黄芪 称取 D-101 型大孔吸附树脂 5 g,用 90%乙醇浸泡 12 h 以上,分装 2 柱后,用 90%乙醇洗脱杂质,洗至 1 mL 洗脱液与 3 mL 水混合澄清后,再用水洗至流下的洗液无醇味,吸取舒心合剂和缺黄芪的舒心合剂各 5 mL 分别上柱流动吸附后,各以 35 mL 水分 5 次洗除杂质,再各用 35

mL50%乙醇分 5 次洗脱后,收集 50%乙醇洗脱液,蒸干,用 1 mL 甲醇溶解,作为供试品溶液和阴性对照溶液;另取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1.5 mg 的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法^[1]试验,吸取上述供试品溶液、对照品溶液各 2 μ L 和阴性对照溶液 10 μ L,分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰(约 5 min),供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的红褐色斑点,紫外光灯(365 nm)下检视,显相同的黄褐色斑点,阴性对照无此斑点。

3.2.2 三七 取舒心合剂 10 mL,用水饱和的正丁醇液振荡提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 2 次,每次 20 mL,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液,同法处理缺三七的舒心合剂作为阴性对照;另取三七对照药材 1 g,加水 10 滴,搅匀,再加水饱和的正丁醇液 10 mL,密塞,振荡 10 min,放置 2 h,离心,取上清液加 3 倍量以正丁醇饱和的水,摇匀,放置,离心使分层,取正丁醇层,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液,另取人参皂苷 R_c 、人参皂苷 R_g 和人参皂苷 R_b 对照品,加甲醇制成每 1 mL 分别含 1 mg、2 mg 和 1 mg 的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液、对照药材溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 10 μ L,分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰(约 5 min),供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的 3~5 个斑点,阴性对照无此斑点。

3.2.3 赤芍 取赤芍对照药材 0.5 g,加无水乙醇 15 mL,振荡 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为赤芍对照药材溶液,照薄层色谱法试验,吸取赤芍对照药材溶液、“三七”项下的供试品溶液和供试品溶液同法处理的缺赤芍的阴性对照溶液各 2 μ L,分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的 2~4 个斑点,阴性对照无此斑点。

3.3 检查

3.3.1 pH 值 按中国药典 2005 年版一部附录 pH 值测定法测定, pH = 4.0~6.5。

3.3.2 相对密度 按中国药典 2005 年版一部附录相对密度测定法测定,相对密度不低于 1.06。

3.3.3 其它 应符合合剂项下有关的各项规定(中国药典 2005 年版一部附录 I J)。

3.4 含量测定

3.4.1 标准曲线的制备^[2] 精密称取 103 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的人参皂苷 R_c 对照品 19.3 mg 于 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得人参皂苷 R_c 对照品溶液,精密吸取该溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL 于 10 mL 具塞刻度试管中,将试管置于冰水浴中,分别加入 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0 mL 的甲醇后,再加入 8% 香草醛乙醇溶液 0.5 mL, 77% 硫酸 5.0 mL, 摇匀,置 60 $^{\circ}$ C 恒温水浴加热 10 min 后,立即在冰水浴中冷却 15 min,并在另一试管中加甲醇 0.5 mL,加随行试剂作为空白对照,照紫外-可见分光光度法^[1]在 544 nm 波长处测定吸收度值(A),求得回归方程 $A = 0.0047C + 0.0058$, $r = 0.9994$,表明人参皂苷 R_c 在 38.6~193 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系。

3.4.2 精密度试验 同一对照品溶液重复测定 5 次吸收度,结果见表 1。

表 1 精密度试验结果

测定次数	吸收度	平均值	RSD
1	0.1838	0.1833	0.3%
2	0.1836		
3	0.1835		
4	0.1831		
5	0.1826		

3.4.3 稳定性试验 同一样品溶液在 5 h 内每隔 60 min 于 544 nm 处测定吸收度,结果见表 2。

表 2 稳定性试验结果

测定时间	吸收度	平均值	RSD
0 h	0.2149	0.2164	2.4%
1 h	0.2132		
2 h	0.2204		
3 h	0.2250		
4 h	0.2115		
5 h	0.2135		

3.4.4 重复性试验 精密吸取人参皂苷 R_c 对照品溶液 0.2 mL 5 份,按标准曲线的制备方法平行制备 5 份样品溶液,于 544 nm 处测定吸收度,结果见表 3。

表 3 重复性试验结果

样品号	吸收度	平均值	RSD
1	0.3993	0.3949	0.6%
2	0.3936		
3	0.3937		
4	0.3940		
5	0.3938		

3.4.5 加样回收试验 精密吸取已知含量的舒心合剂(060420)提取液(照“样品的测定”项下提取)0.2 mL(总皂苷含量 = 90.24 μ g $\cdot$ mL⁻¹) 6 份,分别加入人参皂苷 R_c 对照品溶液 0.1 mL、0.2 mL 各 3 份,按标准曲线制备方法操作,于 544 nm 处测定吸收度,计算加样回收率,结果见表 4。

表 4 加样回收试验结果 (n=6)

Tab4 The experimental results of the recoveries

测定次数	吸收度	加入 Re / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	样品中总皂苷 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	测得量 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.6155	38.6	128.84	129.72	102.28		
2	0.6123	38.6	128.84	129.04	100.52		
3	0.6170	38.6	128.84	130.04	103.11	102.21	1.0
4	0.7982	77.2	167.44	168.60	101.50		
5	0.8024	77.2	167.44	169.49	102.66		
6	0.8043	77.2	167.44	169.89	103.17		

3.4.6 样品的测定 精密吸取舒心合剂 2 mL于照定性鉴别中“黄芪”项下处理的 D-101型大孔吸附树脂柱上,流动吸附后,以 35 mL水分 5次洗脱杂质,再用 35 mL 50%乙醇分 5次洗脱后,收集 50%乙醇洗脱液,蒸干,用甲醇溶解,定容至 25 mL量瓶中,作为舒心合剂提取液,精密吸取提取液 0.2 mL和人参皂苷 Re对照品溶液 0.2 mL,分别置 10 mL具塞刻度试管中,分别加甲醇 0.3 mL,按标准曲线制备方法项下“再加入 8%香草醛 ……”起操作,测定样品和对照品溶液的吸收度值,根据公式 $C_{\text{样品}} = A_{\text{样品}} \cdot C_{\text{对照}} / A_{\text{对照}}$,计算样品溶液中总皂苷的含量,结果见表 5。

表 5 舒心合剂中总皂苷含量测定结果

Tab5 The experimental results of the contents of total saponins in Shuxin Mixtrue

样品批号	总皂苷含量 / $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$
050614	0.989
060214	1.246
060420	1.128

4 讨论

4.1 冠心病,心绞痛多由于心气虚弱,气滞血瘀所致,心主血脉,血液的运行主要靠心气的推动,心气不足,鼓动无能则出现气滞血瘀,心气不足,心脉不畅,脉络不通,不通则痛。气为血之帅,气通血则行,气血通畅,痛则自消。故冠心病心绞痛治疗上宜补益心气,活血化瘀。舒心合剂的组方以此为原则,方中黄芪、党参补中益气,升阳养血为君药;三七、丹参

活血化瘀,止痛养血为臣药;赤芍清热凉血,祛瘀止痛,能祛瘀行滞缓解疼痛,协助君、臣药以增强活血化瘀止痛作用为佐药,达到标本同治的目的。该制剂缓解心绞痛的效果确切,深受广大患者的欢迎。

4.2 黄芪的鉴别中,用正丁醇提取液和大孔树脂洗脱液比较,结果正丁醇提取液展开时不能很好分离,故选用大孔树脂洗脱液。用含量测定项下的大孔树脂洗脱液时,点样量需增大到 20 μL ,才能得到与对照品斑点深浅接近的斑点。

4.3 舒心合剂中,皂苷为其主要成分,据文献^[2]报道,以 50%乙醇洗脱大孔吸附树脂吸附的人参总皂苷,洗脱率为 90%以上,而水洗除杂质效果好。以 5个柱体积的水洗脱后,糖的鉴别呈阴性。以本文方法制备样品溶液,使皂苷含量在线性范围内,以对照品比较法测定总皂苷含量,能减少误差,方法简便、准确,建立的质量标准可有效地控制舒心合剂的质量。测定结果表明,不同批次的舒心合剂皂苷含量差别大,尚需对使用的药材进行质量控制。

参考文献

- [1] Ch. P (2005) Vol I (中国药典 2005年版.一部) [S]. 2005: appendix 31, 28.
- [2] ZHANG C X, ZHENG Y L, ZHANG C H, *et al.* Study on extractive technology for total saponins and rebirth with macroreticular resin [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003 38 (9): 661-664.