

生脉糖浆质量标准研究

杨诚芳¹, 何悦², 谢勇²

(1 福建三爱药业有限公司, 福建 建阳 354200; 2 福建省中心检验所, 福建 福州 350002)

摘要: 建立了生脉糖浆质量标准。采用 TLC 法对方中的五味子、麦冬、党参进行了定性鉴别, 并用 HPLC 对五味子中的五味子醇甲进行含量测定。采用 Ultimate XB - C18 (4.6mm × 250mm 5μm) 色谱柱, 以甲醇 - 1% 冰醋酸 (60 : 40) 为流动相, 检测波长为 250nm。薄层色谱斑点清晰, 易于识别, 专属性强; 五味子醇甲在 0.00676 ~ 0.169mg/mL 呈良好的线性关系 ($r = 0.9999$), 平均回收率为 103.3%, RSD 为 1.7%。该方法简便、准确、重复性好, 提高后的质量标准能更有效的控制该制剂质量。

关键词: 生脉糖浆; 质量标准; 薄层色谱; 五味子醇甲; 高效液相色谱法

Studies on Quality Standard of Shengmai Syrup

YANG Chen - fang¹, HE Yue², XIE Yong²

(1 Fujian San Ai Pharmaceutical Co., Ltd., Fujian Jianyang 354200;

2 Fujian Provincial Central Inspection Institute, Fujian Fuzhou 350002, China)

Abstract: The quality standard of Shengmai Syrup was established. Shengmai Syrup, fructus schisandra chinensis, radix ophiopogonis, radix codonopsis in Shengmai Syrup were qualitatively identified by TLC. The content of Schizandrin was determined by HPLC. The chromatographic conditions were: ultimate XB - C18 (4.6mm × 250mm, 5μm) column, methanol and 1% glacial acetic acid (60 : 40) as mobile phase, the detection wavelength of 250nm. A good linearity was obtained in range of 0.00676 ~ 0.169mg/mL of Schizandrin ($r = 0.9999$). The average recovery was 103.3% (RSD% = 1.7%). The method was simple, accurate and reproducible and can be used for the quality control of Shengmai Syrup.

Key words: Shengmai Syrup; quality control; TLC; Schizandrin; HPLC

生脉糖浆主要有党参、麦冬、五味子三种药材经水煮醇沉提取制成的液体制剂, 临床上主要用于气阴两亏、心悸气短、自汗等症。其质量标准收载于《卫生部药品标准第十一册》, 原标准仅收载了性状、相对密度, 为了更好的控制该制剂质量, 本研究增订了麦冬、五味子、党参的薄层鉴别, 同时采用高效液相色谱法测定五味子醇甲含量, 提高后的质量标准: 薄层鉴别方法专属性强, 含量测定方法操作简便、结果准确, 适合作为法定质量标准。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent Technologies 1200 高效液相色谱仪; TU - 1800PC 紫外可见分光光度计; TU - II 型暗箱式紫外观察仪。

1.2 试剂

硅胶 G 板, 自制; 硅胶 GF254 板, 青岛海洋化工厂; 水为纯化水, 甲醇为色谱纯, 其它试剂为分析纯。

1.3 对照药材

五味子、党参、麦冬对照药材, 均购于中国药品生物制品检定所。

1.4 对照品

五味子醇甲对照品, 批号 110857 - 200507, 购于中国药品生

物制品检定所。党参炔苷对照品, 批号 111732 - 200601, 购于中国药品生物制品检定所。

1.5 供试品

生脉糖浆 (福建三爱药业有限公司自制)^[1]。

2 方法与结果

2.1 五味子 TLC 鉴别

取本品 10mL, 置分液漏斗中, 加石油醚 100mL 萃取, 静置分层, 分取石油醚层, 下层溶液继续用石油醚萃取, 萃取 2 次, 每次用石油醚 50mL, 合并三次萃取的石油醚, 挥干石油醚, 残渣加氯仿 1mL 使溶解, 作为样品溶液; 另取五味子对照药材粉末 1g, 加水 10mL, 同法制成对照药材溶液; 另取五味子醇甲适量, 加氯仿制成每 1mL 各含 0.2mg 的溶液; 另取缺五味子的阴性对照样品照样品的制备方法制成阴性对照溶液; 照薄层色谱法《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取样品溶液、阴性对照溶液、对照品溶液各 5μL, 对照药材 2μL, 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上; 以石油醚 (30℃ ~ 60℃) - 甲酸乙酯 - 甲酸 (15 : 5 : 1) 的上层溶液为展开剂, 展开后, 取出晾干, 置紫外光灯 (254nm) 下检视, 供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点^[1], 阴性无干扰, 见图 1。

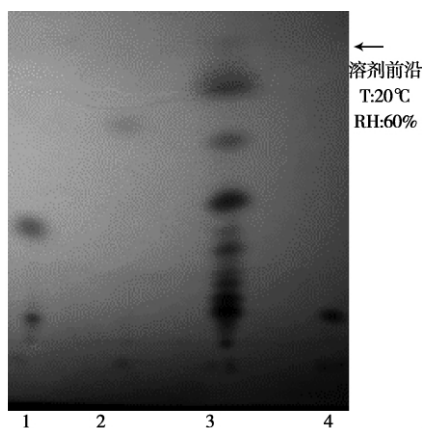


图1 五味子 TLC 图谱

1 样品; 2 缺五味子阴性对照; 3 五味子对照药材; 4 五味子醇甲

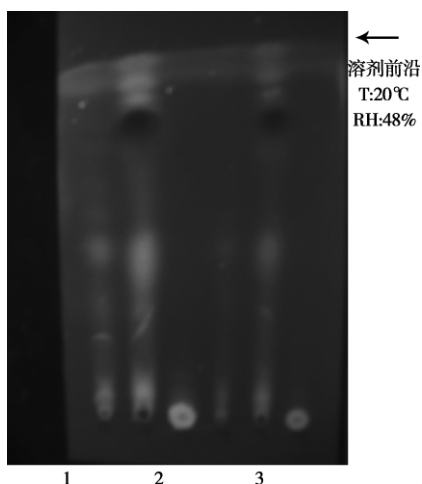


图2 党参 TLC 图谱

1 样品; 2 缺党参药材阴性对照; 3 党参炔苷

2.2 党参 TLC 鉴别

取本品 10mL 加甲醇 30mL 使溶解, 超声处理 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 2mL 使溶解, 置 C_{18} 固相萃取小柱(300mg 用甲醇、20% 甲醇各 10mL 预洗) 中, 依次用 20% 甲醇、甲醇各 4mL 洗脱, 收集甲醇洗脱液, 浓缩至 1mL, 作为供试品溶液。另取党参炔苷对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.5mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺党参的阴性对照样品照样品的制备方法制成阴性对照溶液; 照薄层色谱法《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取党参炔苷对照品溶液 10 μ L 样品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L, 分别点于含 0.1mol/L 硫酸氢钠的硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-冰醋酸-水(25:3:2) 展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热 20min 后置紫外灯(365nm) 下检视, 在与对照品相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性无干扰^[1]。见图 2。

2.3 麦冬 TLC 鉴别

取本品 10mL 加盐酸 2mL 和三氯甲烷-甲醇(7:3) 混合液 20mL, 小火回流 30min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加三氯甲烷 1mL 使溶解, 作为供试品溶液, 另取已剪碎的麦冬对照药材 2g, 加水 10mL、盐酸 2mL 和三氯甲烷-甲醇(7:3) 混合液 20mL 摇匀, 静置 2h 后小火回流 30min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加三氯甲烷 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液。

再取缺麦冬的阴性样品照样品的制备方法制成阴性对照溶液; 照薄层色谱法《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-丙酮(4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 然后置紫外灯(365nm) 下检视, 在与对照药材相应的斑点上显相同颜色的斑点, 阴性无干扰^[1], 见图 3。

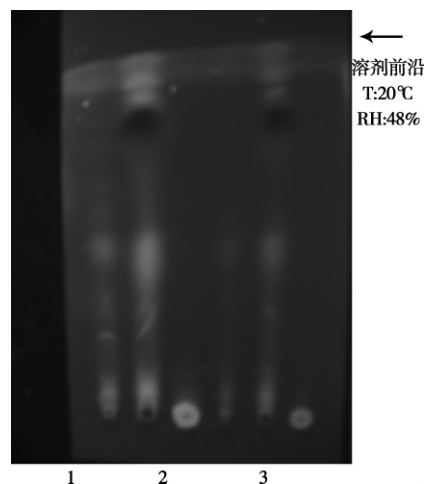


图3 麦冬 TLC 图谱

1 样品; 2 麦冬对照药材; 3 缺麦冬阴性对照

2.4 含量测定

2.4.1 对照品溶液的制备

取五味子醇甲对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解并稀释成每 1mL 含五味子醇甲 0.025mg 的溶液。

2.4.2 样品制备

取本品 10mL, 超声处理 10min(功率 300W, 50Hz), 置分液漏斗中, 精密加入环己烷 80mL 萃取, 取环己烷层, 再同法萃取二次, 每次用环己烷 40mL; 合并三次环己烷液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇 25mL 溶解, 即得。

2.4.3 阴性对照溶液的制备

取缺五味子样品, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.4.4 色谱条件与系统适用性试验

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 甲醇-1% 冰醋酸(60:40) 为流动相; 检测波长为 250nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 理论板数按五味子醇甲峰计算应不低于 2000^[1]。

2.4.5 准确度试验

准确称取对照品溶液 16.9mg, 置 100mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备溶液 A; 供试品溶液的制备: 精密称取已知含量的同一批号的样品共 9 份, 分别置 9 个具塞锥形瓶中, 精密加入上述三种贮备液适量(具体加入量见表 1) 按供试品溶液的制备方法上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表1 回收率试验结果

编 号	样品取 样量/mL	样品中 五味子 醇甲含 量/mg	加入贮 备液 /mL	加入五 味子甲 醇量 /mg	测出五 味子醇 甲总量 /mg	回收率 /%	平均回 收率 /%	RSD /%
1	10	0.2837	1	0.169	0.4612	105.0		

续表

2	10	0.2837	1	0.169	0.4573	102.3
3	10	0.2837	1	0.169	0.4590	103.7
4	10	0.2837	2	0.338	0.6210	99.8
5	10	0.2837	2	0.338	0.6314	102.9 103.3 1.7
6	10	0.2837	2	0.338	0.6356	104.1
7	10	0.2837	3	0.676	0.9889	104.3
8	10	0.2837	3	0.676	0.9787	102.8
9	10	0.2837	3	0.676	0.9941	105.1

2.4.6 重复性试验

精密量取同批号的样品 10mL,共 6 份,按供试品溶液的制备方法制备,测定。结果平均含量为 0.028mg/mL,RSD 为 3.0%,重复性良好。

2.4.7 专属性试验

精密量取供试品溶液、阴性对照溶液、对照品溶液各 20 μ L,分别注入液相色谱仪,测定。结果阴性对照溶液在与五味子醇甲对照品保留时间处无色谱峰,故认为无干扰(见图 4)。

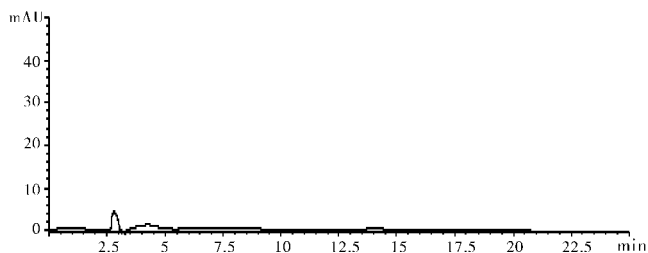
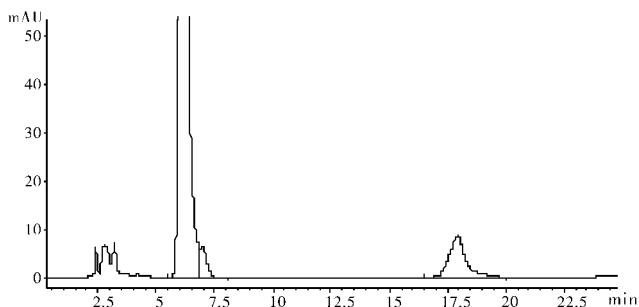
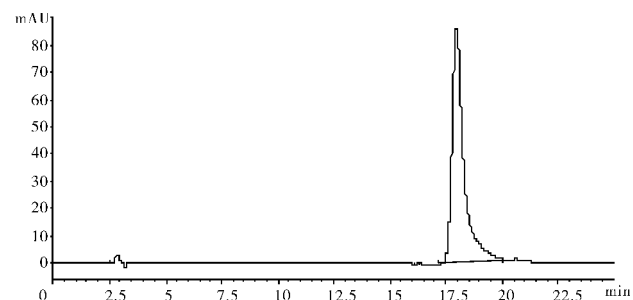


图 4 生脉糖浆 HPLC 图

A 对照品溶液; B 样品溶液; C 阴性对照溶液; t = 17.975min 五味子醇甲色谱峰

2.4.8 线性关系考察

取五味子醇甲对照品 16.9mg,精密称定,置 100mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照储备液;分别精密量取储备液 25.0,12.5,6.25,3.125 mL,分别置 25mL 容量瓶中,用甲醇

稀释至刻度,摇匀,分别精密量取 20 μ L 注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积为纵坐标,以五味子醇甲浓度(mg/mL)为横坐标,结果表明,五味子醇甲在 0.00676~0.169mg/mL 内线性良好,得回归方程为: $Y = 37949.69X - 16.3852$ 相关系数 r 为 0.9999。

进样浓度/(mg/mL)	峰面积
0.00676	246.9
0.01352	499.1
0.02704	1018.1
0.0845	3159
0.169	6411

2.4.9 耐用性试验

不同色谱柱的考察:取同供试品溶液,使用不同色谱柱(上海月旭公司 Ultimate XB - C₁₈ 5 μ m 和大连依利特公司 ODS - C₁₈ 5 μ m)按拟定的方法进行含量测定,结果不同色谱柱测得的结果 RSD 为 0.8%,表明五味子醇甲含量测定不受色谱柱的影响。

稳定性试验:精密量取同一供试品溶液,在间隔 0、2、4、6h 分别进样,记录峰面积,测定结果的 RSD 为 1.2%,表明供试品溶液在 6h 内稳定。

不同柱温的考察:取同一批号的供试品溶液,使用不同柱温按拟定方法进行含量测定,结果柱温在 30 $^{\circ}$ C 时对照品溶液五味子醇甲色谱峰后分离出一峰而样品溶液主峰后无峰出现,柱温 20 $^{\circ}$ C 测定对照品和样品溶液五味子醇甲峰后均无峰出现,而五味子醇甲沸点为 150 $^{\circ}$ C,不可能在 30 $^{\circ}$ C 发生分解,故为对照品不纯导致,因此柱温选择为 30 $^{\circ}$ C。

3 讨论

3.1 测定波长的选择

取五味子醇甲对照品溶液,在 190~400nm 波长范围进行扫描,在 250nm 处有最大吸收,故选择 250nm 波长作为测定波长。

3.2 提取溶剂的选择

笔者曾分别用甲醇直接超声提取、氯仿萃取、环己烷萃取,进行含量测定比较,结果氯仿提取效率较低;甲醇提取与环己烷提取效率一致,但甲醇提取阴性对照存在干扰且样品中含糖较高对色谱柱损坏较大;环己烷提取提取效率高、分离度好、专属性强,故采用环己烷提取。

3.3 流动相的选择

曾试用以下流动相:①甲醇-1%冰醋酸(60:40);②甲醇-0.085%磷酸(60:40);采用两种流动相供试品色谱峰均得到较好分离,在不同色谱柱上分离度达 1.5 以上,但流动相①供试品色谱峰峰形对称,理论板数达 4000 以上,全程洗脱时间为 30min;流动相②供试品色谱峰不对称,实际板数只有 2000 左右,全程洗脱时间较长,达 40min;故选择流动相①。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 卫生部药品标准中药成方制剂第十一册 [M]. 1996: 47.
 [2] 杨其盖主编. 天然药物化学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 14-18.
 [3] 国家药典委员会编. 中国药典(一部) 2005 年版. 北京: 北京工业出版社 2005: 44-45.