

益心舒胶囊质量标准

肖飞^{1*}, 李卫民², 李其凤¹

(1. 广州中医药大学科技产业园有限公司, 广州 510445;
2. 广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:建立益心舒胶囊质量控制方法。方法:采用薄层色谱法对人参、丹参、五味子和黄芪进行定性鉴别;用高效液相色谱法对人参皂苷 R_{g1}、Re 进行含量测定,采用 Merk RP-C₁₈ (4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,乙腈-0.05% 磷酸溶液 (20:80)为流动相,检测波长 203 nm。结果:本品定性鉴别薄层色谱斑点清晰,专属性强,易于识别;人参皂苷 R_{g1} 在进样量为 0.399 2~3.992 0 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$),人参皂苷 Re 在进样量为 0.395 6~3.956 0 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 加样回收率平均达 99.6%,RSD 1.9%。结论:该方法准确灵敏、简便、重复性好,提高后的质量标准能更有效的控制益心舒胶囊的质量。

[关键词] 益心舒胶囊;人参;丹参;五味子;黄芪;高效液相色谱;薄层色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)20-0085-04

Discussion of Quality Standard of Yixinshu Capsule

XIAO Fei^{1*}, LI Wei-min², LI Qi-feng¹

(1. Science and Technology Park Ltd. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China; 2. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** Establish quality method for Yixinshu Capsule. **Method:** TLC method was used to identify Ginseng, Salvia, Schisandra and Astragalus, the content of ginseng saponins R_{g1} and Re was determined by HPLC on Merk RP-using C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) of chromatographic column with acetonitrile-0.05% phosphoric acid (20:80) as mobile phase at 203 nm. **Result:** TLC spots were clear with strong specificity and easy identification. Ginseng saponins R_{g1} was linear in the range of 0.399 2-3.992 0 μg ($r=0.999\ 9$), ginseng saponins Re was linear in the range of 0.395 6-3.956 0 μg ($r=0.999\ 9$), the average recovery of ginseng saponins R_{g1} and Re was 99.6%, RSD of 1.9%. **Conclusion:** This method is accurate, simple, sensitive with good reproducibility, and can more effectively control the quality of Yixinshu capsule by raising the quality standards.

[Key words] Yixinshu capsule; ginseng; salvia; schisandra; astragalus; HPLC; TLC

益心舒胶囊标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十三册^[1],是由人参、麦冬、五味子、黄芪、丹参等组成的中药复方制剂,具有益气复脉、活血化痰、养阴生津的功效,用于气阴两虚,心悸脉结代,胸闷不舒、胸痛及冠心病心绞痛见有上述症状者。原标准仅有一项人参皂苷 R_{g1} 薄层色谱鉴别。为了更好的控制该制剂的质量,本研究增加了人参皂苷 R_{b1}、丹参、五味子、黄芪的薄层色谱鉴别,并增加了人参皂苷 R_{g1}、Re 高效液相色谱含量测定。

1 材料

1.1 试药 益心舒胶囊为广州中医药大学科技产

[收稿日期] 2011-04-22
[通讯作者] * 肖飞, 硕士, 制药工程师, 从事中药固体制剂及中试放大工艺研究, Tel: 13580395209, E-mail: xiaofei_gd@yahoo. cn

业园有限公司提供; 人参皂苷 Rg_1 (批号 110703-200322)、人参皂苷 Re (批号 110754-200320)、人参皂苷 Rb_1 (批号 110704-200308)、丹参酮 II_A (批号 110766-200314)、五味子甲素 (批号 0764-200107)、黄芪甲苷 (批号 0781-200109), 均购自中国药品生物制品检定所; 阴性样品自制; 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 Agilent1100 高效液相色谱仪、紫外检测器 (安捷伦科技有限公司); Merk RP- C_{18} 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m); BP221S 电子天平 (德国 Sartorius, d = 0.1 mg); MC215S 电子天平 (德国 Sartorius, d = 0.01 mg)。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别^[2]

2.1.1 人参薄层色谱鉴别^[3-4] 取本品内容物 2 g, 研细, 加甲醇 50 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 加水 10 mL 使溶解, 用乙醚提取 2 次, 每次 10 mL, 弃去乙醚液, 分取水层, 用正丁醇饱和的水洗 2 次, 每次 20 mL, 分取正丁醇液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺人参的阴性对照品 2 g, 同法制成阴性对照品溶液。再取人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb_1 对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含人参皂苷 Re 2 mg、人参皂苷 Rb_1 1 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L 分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水 (65:35:10) 5 ~ 10 $^{\circ}$ C 放置 12 h 的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 于 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。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, 缺人参的阴性对照品无干扰。

2.1.2 丹参薄层色谱鉴别^[5-6] 取本品内容物 4 g, 研细, 加乙醚 10 mL, 置具塞试管中, 振摇, 放置 1 h, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺丹参的阴性对照品 4 g, 同法制成阴性对照品溶液。再取丹参酮 II_A 对照品, 加醋酸乙酯制成的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L 分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-乙酸乙酯 (19:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 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, 缺丹参的阴性对照品无干扰。

2.1.3 五味子薄层色谱鉴别^[7-8] 取本品内容物 12 g, 研细, 加三氯甲烷 20 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺五味子的阴性对照品 12 g, 同法制成阴性对照品溶液。再取五味子甲素对照品, 加三氯甲烷制成每 0.5 g $\cdot$ L⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 8 μ L 分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以石油醚 (30 ~ 60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸 (8:2:1) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯 (254 nm) 下检视。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, 缺五味子的阴性对照品无干扰。

2.1.4 黄芪薄层色谱鉴别^[9-10] 取本品内容物 8 g, 研细, 加甲醇 100 mL, 加热回流 2 h, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加水 40 mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙醚提取 2 次, 每次 30 mL, 弃去乙醚液, 分取水层, 置 50 ~ 60 $^{\circ}$ C 水浴挥去残留的乙醚, 放冷, 用水饱和的正丁醇提取 3 次, 每次 30 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液提取 2 次, 每次 30 mL, 弃取氨试液, 正丁醇液水浴蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺黄芪的阴性对照品 8 g, 同法制成阴性对照品溶液。再取黄芪甲苷对照品, 加甲醇制成 0.6 g $\cdot$ L⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L 分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水 (13:6:2) 10 $^{\circ}$ C 放置 12 h 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 90 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 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, 缺黄芪的阴性对照品无干扰。

2.2 含量测定^[11-14]

2.2.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 乙腈-0.05% 磷酸溶液 (20:80) 为流动相, 流速为 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测波长为 203 nm。在上述条件下, 人参皂苷 Rg_1 在 25.0 min 出峰, 理论塔板数 8 471; 人参皂苷 Re 在 26.9 min 出峰, 理论塔板数 8 093; 人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 与其他峰的

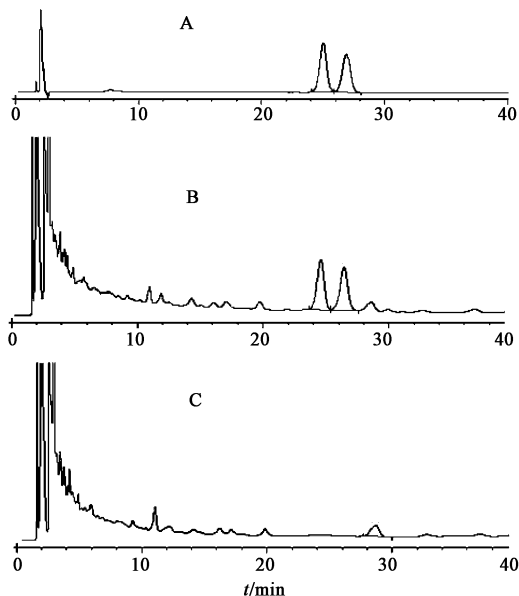
分离度 >1.5 。理论板数按人参皂苷 R_{g1} 峰计算应不低于6 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 R_{g1} 对照品 9.98 mg、人参皂苷 Re 对照品 9.89 mg,用甲醇分别溶解定容至 10 mL;再分别精密量取 2 mL,用甲醇定容至 10 mL,分别制成每 1 mL 含人参皂苷 R_{g1} 0.199 6 mg,人参皂苷 Re 0.197 8 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品内容物 2 g,研细,精密称定,置索氏提取器中,加三氯甲烷 80 mL,加热回流 3 h,弃去三氯甲烷液,药渣挥去三氯甲烷,连同滤纸筒移入具塞锥形瓶中,精密加入水饱和的正丁醇 50 mL,密塞,放置过夜,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)30 min,滤过,精密量取续滤液 25 mL,置分液漏斗中,用正丁醇饱和的氨试液提取 3 次,每次 10 mL,弃去氨试液,正丁醇液置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 阴性对照样品溶液的制备 取缺人参的阴性样品 2 g,按 2.3.3 项下制备方法制成阴性对照液。

2.2.5 专属性考察 取人参对照品溶液、供试品溶液及阴性对照样品溶液,照上述液相色谱含量测定方法测定,结果表明其他成分对人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 测定无干扰。见图 1。



A. 人参皂苷对照品;B. 益心舒胶囊供试品;C. 人参阴性对照

图1 益心舒片 HPLC

2.2.6 线性关系考察 精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液 2,6,10,12,20 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以对照品进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标、峰面积值 $Y(\text{mAU})$ 为纵坐标,结果如下人参皂苷 R_{g1} 回归方程为 $Y = 299.16X - 8.1569$ ($r = 0.9999$);人参皂苷 Re 回归方程为 $Y = 258.47X - 8.4409$ ($r = 0.9999$)。结果表明人参皂苷 R_{g1} 在 0.399 2 ~ 3.992 0 μg 与峰面积具有良好的线性关系;人参皂苷 Re 在 0.395 6 ~ 3.956 0 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液 10 μ L,连续重复进样 5 次,测定人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 峰面积值,人参皂苷 R_{g1} RSD 为 0.77%;人参皂苷 Re RSD 为 0.64%。结果表明人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 精密度良好(RSD $<2\%$)。

2.2.8 重复性试验 取同一批样品(批号 090705)内容物 2 g,精密称取 5 份,分别照含量测定法制备供试品溶液,测定人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 含量。人参皂苷 R_{g1} 与人参皂苷 Re 的总量的平均质量分数为 0.170 6%,RSD 为 2.2%。表明本法的重复性较好。

2.2.9 稳定性试验 精密称取益心舒胶囊(批号 090705)2.025 0 g,照含量测定项下制备供试品溶液,取供试品溶液 10 μ L,在 0,2,4,6,8 h 测定人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 峰面积值,结果人参皂苷 R_{g1} RSD 为 1.7%;人参皂苷 Re RSD 为 1.4%。结果表明样品中人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 在 8 h 内可保持稳定。

2.2.10 加样回收试验 采用加样回收法,取同一批样品(批号 090705)内容物 1 g,精密称取 5 份,精密加入上述对照品 5 mL,将甲醇挥干,照含量测定方法,测定人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 含量,结果见表 1。

2.2.11 样品的含量测定 精密称取本品内容物 2 g,照含量测定法测定,标准曲线法计算样品中人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 含量。3 批样品测定结果分别为 0.51,0.54,0.52 mg/粒。

含量限(幅)度:根据药典规定,人参以人参皂苷 R_{g1} ($\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$) 和人参皂苷 Re ($\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18}$) 的总量计,不得少于 0.30%,益心舒胶囊以转移率 60% 计,每粒含人参皂苷 R_{g1} ($\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$) 和人参皂苷 Re ($\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18}$) 的总量计应为不低于 0.27 mg,故暂定

表 1 人参皂苷回收率试验

No.	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	1.056	1.802	1.987	3.739	97.5	99.6	1.9
2	1.125	1.919	1.987	3.895	99.4		
3	1.135	1.936	1.987	3.885	98.1		
4	1.199	2.045	1.987	4.047	100.8		
5	1.194	2.037	1.987	4.068	102.2		

本品每粒含人参以人参皂苷 Rg₁ (C₄₂H₇₂O₁₄) 和人参皂苷 Re (C₄₈H₈₂O₁₈) 的总量计, 应为不低于 0.30 mg。

3 讨论

本品中人参是直接打粉入药, 参照《中国药典》2010 年版一部人参含量测定方法中人参的制备方法, 确定了本标准供试品溶液的提取方法。但因本方药味复杂, 根据文献报道, 在其后增加了用氨试液除杂的方法, 以使人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 与其他峰分离良好。

《中国药典》2010 年版一部将五味子药材按来源分为五味子和南五味子, 五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 南五味子为木兰科植物华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 的干燥成熟果实, 益心舒胶囊中五味子药材确定为五味子。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂: 第十三册[S]. 1993.

[2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 附录 VI B.

[3] 卢光达, 李影. 人参养荣丸质量标准商榷[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(4): 978.

[4] 刘惠娟. 竭香定痛胶囊中冰片和人参的薄层色谱鉴别[J]. 当代医学, 2010, 21: 41.

[5] 南善姬, 郑美善, 韩映晨. 扶胃平胶囊的薄层鉴别方法[J]. 中国药业, 2006, 15(11): 40.

[6] 范晓庆, 杨钊, 张春辉. 海青胶囊中黄芪、大黄、丹参的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业, 2008, 17(8): 42.

[7] 唐冰. 抗饥消渴片中主要成分的薄层鉴别[J]. 中成药, 2003, 25(4): 339.

[8] 胡建英. 安康灵胶囊中五味子、白芍及苦参薄层鉴别研究[J]. 海峡药学, 2008, 12: 60.

[9] 范晓庆. 祛风通络胶囊中黄芪、炮山甲的薄层色谱鉴别[J]. 齐鲁药事, 2008, 27(3): 158.

[10] 王春霞, 李华康. 补脾益肠丸中黄芪的薄层鉴别[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(3): 222.

[11] 曹泰山, 王丹. 人参皂苷 Rg₁ 与人参皂苷 Re 含量测定方法的研究[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(8): 739.

[12] 许乾丽, 茅向军, 熊慧林. HPLC 测定益心舒胶囊中人参皂苷 Rg₁、Re 的含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(18): 1462.

[13] 周立艳, 梁生旺, 冯素香, 等. 优肝宁胶囊中人参皂苷 Rg₁、Re 的含量测定[J]. 广东药学院学报, 2006, 22(2): 146.

[14] 陈舒茵, 申洪超, 黎瑞汝, 等. 高效液相色谱法测定律复康胶囊中人参皂苷 Re 和 Rgl 的含量[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(1): 1.

[责任编辑 蔡仲德]