

复方田七滴丸质量标准的研究

★ 伍毅 (广东省江门市五邑中医院/暨南大学医学院第六附属医院 江门 529000)

★ 吴金美 (广西桂林医学院 2002 级本科生 桂林 541004)

摘要:目的:建立复方田七滴丸的质量标准。方法:采用 TLC 对复方田七滴丸中三七、赤芍进行定性鉴别;并应用 HPLC 法对复方田七滴丸中丹参进行含量测定。结果:在 TLC 色谱中均能检出三七、赤芍;原儿茶醛在 1.6~14.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率为 100.30%, $RSD=0.54\%$ ($n=5$)。结论:所建立的方法可靠准确地进行定性、定量检测,可用于复方田七滴丸的质量控制。

关键词:复方田七滴丸;原儿茶醛;薄层层析法;高效液相色谱

中图分类号:TQ 460.7 **文献标识码:**A

复方田七滴丸由三七、丹参、赤芍三味中药组成,原为胶囊剂。根据临床需要,通过工艺改进,制备成适应急症要求的复方田七滴丸,经临床应用,疗效确切。本方具有祛瘀止痛的功效,临床用于咯血、吐血、衄血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌打肿痛的治疗。为有效控制产品质量,采用 TLC 法对方中三七、赤芍进行定性鉴别,用 HPLC 法对原儿茶醛进行了含量测定,为建立质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪 LC-10A,SPD-10AVP 紫外检测器(日本岛津);CK chrom data acquisition system(美国 TSP)。

1.2 试剂 原儿茶醛对照品(由中国药品生物制品检定所提供),复方田七滴丸(本实验室自制);硅胶 G(青岛海洋化工厂);超纯水;乙腈、甲醇为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 三七的鉴别 取样品 10 丸,研碎,置具塞试管中,加乙醚 30 mL,超声处理 10 分钟,药渣挥去乙醚,加入甲醇 30 mL,超声处理 15 分钟,滤过滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 15 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 2 次,每次 10 mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作供试品溶。另取三七对照药材及缺三七的阴性对照品 1 g,加入甲醇 30 mL,同法制成三七药材对照液及阴性对照溶液。分别吸取上述溶液各 10 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂,展开,展距 15 cm,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 105

$^{\circ}\text{C}$ 烘至斑点清晰。供试品色谱中,在于对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝紫色斑点,而阴性对照品无此斑点。

2.2 赤芍的鉴别^[1] 取样品 20 丸,研碎,置具塞试管中,加乙醚 30 mL,超声处理 10 分钟,药渣挥去乙醚,加水 10 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 15 mL,合并正丁醇提取液,用正丁醇饱和的水 15 mL 洗涤,弃去水层,正丁醇液蒸干,残渣加 1 mL 甲醇使溶解作为供试品溶液。取缺赤芍的其它各味中药材,按处方配比同法制成阴性对照液。另取赤芍对照药材同法制成对照药材溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 6 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-浓氨(8:1:4:1)为展开剂,展开,展距 15 cm,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,于日光下观察,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的颜色斑点,而阴性对照品无此斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱:岛津 Shim-pack VP-ODS 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,粒径 4.6 μm);流动相:甲醇-乙腈-0.5% 冰醋酸(6:6:88)溶液;流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;进样量:20 μL (定量环)。

3.2 供试品溶液制备 取样品适量,研碎,精密称定,置具塞试管中,精密加入 60% 甲醇溶液 10 mL,称重,超声处理 30 分钟,放冷至室温,用 60% 甲醇补足重量,置冰箱中冷冻 1 小时,待聚乙二醇 6 000 完全析出,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,作供试品溶液。

3.3 检测波长的确定 用60%甲醇溶液配制原儿茶醛对照品溶液0.1 mg/mL,在6010-紫外分光光度计(惠普上分)上200~400 nm范围扫描,在280 nm波长处有最大吸收,故选之为检测波长。

3.4 对照品溶液的制备与线性关系考察 精密称取原儿茶醛对照品4.0 mg,置25 mL容量瓶中,加入60%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成对照品储备溶液,分别精密吸取上述原儿茶醛对照品储备溶液0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 mL置10 mL容量瓶中,加60%甲醇溶液配制成浓度为1.6、4.8、8.0、11.2、14.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,分别以20 μL 进样,测得峰面积,求回归方程为 $A = 698\ 62.69C + 233\ 69$, $r = 0.999\ 9$ 。表明原儿茶醛在1.6~14.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,线性良好。

3.5 空白试验 按处方比例和制法,白制成不含丹参的样品,并按供试品溶液的制法制成空白对照溶液。依法进样测定,结果空白对照溶液在原儿茶醛保留时间处无色谱峰,表明在实验条件下,其他药材成分对测定无干扰。

3.6 稳定性试验 取同一批号的供试品溶液,按供试品溶液的制备方法,依上述色谱条件,于制备后0、1、2、3、4、8、10、24小时进行测定。结果:样品溶液平均峰面积为392 636, RSD 为0.84%,表明原儿茶醛含量在24小时内稳定性良好。

3.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液,每次20 μL ,重复进样5次, $RSD = 1.10\%$ 。

3.8 重复性试验 取同一批号样品(050301),共5份,分别按供试品溶液的制备方法,照上述色谱条件测定,结果平均含量为29.61 $\mu\text{g/g}$, RSD 为1.04% ($n = 5$)。说明方法重现性良好。

3.9 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量的样品9份(含量33.56 $\mu\text{g/g}$),每份1 g,分别添加一定量的原儿茶醛对照品0.2、0.4、0.6 mL,混匀,按样品溶液得到制备下操作制备供试液,分别进样,测定峰面积,计算结果见表1。

表1 原儿茶醛加样回收率试验结果

样品含量/ μg	加入量/ μg	测得/ μg	回收率(%)	平均回收率(%)	$RSD(\%)$
6.75	2.24	8.99	100.0	100.30	0.54
6.78	2.24	9.03	101.53		
6.76	2.24	9.02	100.89		
6.77	4.48	11.24	99.78		
6.79	4.48	11.25	99.55		
6.73	4.48	11.24	100.67		
6.74	6.72	13.53	101.04		
6.73	6.72	13.51	100.60		
6.72	6.72	13.44	99.70		

3.10 样品测定 取4批样品,分别精密量取,依法制成供试品溶液,均以20 μL 进样,分别测定吸收峰面积,外标法计算绿原酸含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n = 5$)

批号	绿原酸平均含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$RSD(\%)$
050301	29.61	0.99
050302	33.56	1.05
050303	30.20	1.11

4 讨论

(1)本实验对复方田七滴丸中的药材所作的TLC鉴别实验,斑点集中,层次清晰,重现性好,稳定可靠,具可操作性,用HPLC对原儿茶醛作含量测定,方法简便、灵敏、准确、重复性好,可用于本品的质量控制。

(2)显色时注意加热的温度和时间,以免板面炭化影响显色。

(3)本实验对HPLC分析时的流动相系统组成和比例作了比较,参考有关文献^[1~3],对多种溶剂系统进行选择,根据分离情况,选用了以甲醇-乙腈-0.5%冰醋酸(6:6:88)溶液测定原儿茶醛。

参考文献

- [1] 刑俊波,刘云. HPLC测定康心胶囊中丹参素和原儿茶醛的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(5): 38
- [2] 钟化人,郝丽晓,窦爱兰. 用高效相色谱法测定蚊参护肝液中丹参的原儿茶醛含量[J]. 山西医科大学学报, 1999, 30(增刊): 1
- [3] 苗明兰,李振国,主编. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 674

(收稿日期:2006-05-08)

新专栏征稿

《江西中医学院学报》(双月刊)已全面改版,以下重点栏目面向全国征稿:

●理论研究 对中医重大理论问题进行专题论述。讨论专题有:中医水理论研究、火理论研究、体质学说研究、梦理论研究、病证理论研究。

●百家争鸣 旨在打破中医学术界的沉闷局面,对中医药事业发展的重大问题展开讨论争鸣。争鸣要求坚持良好的学术道德,敢说真话,敢亮观点。争鸣的主要内容有:中医教育反思、中医科研走向、中医发展前景、中西医结合前景、新时期中医的生存模式等。

欢迎广大作者踊跃投稿。