昆明学院学报　2014, 36(6):76~79　CN 53-1211/G4　ISSN 1674-5639
Journal of Kunming University

七龙天胶囊质量标准实验研究

余晓玲,付　义*,魏丹霞,邹昱蕾
(云南中医学院 第三附属医院,云南 昆明 650011)

摘要:采用薄层色谱法(TLC)对七龙天胶囊中的地龙进行定性鉴别,结果表明,地龙对照药材在与供试品的薄层色谱相应位置上,有相同颜色斑点,阴性对照无干扰.另采用高效液相色谱法(HPLC)测定处方中三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1 和 Rb_1 及红景天苷的质量分数,结果显示,三七皂苷 R_1 在 0.178~3.560 μg、人参皂苷 Rb_1 在 0.430~8.600 μg、人参皂苷 Rg_1 在 0.539~10.780 μg、红景天苷在 0.206~4.120 μg 范围内与峰面积值呈良好线性关系(r 分别为 0.999 7,0.999 8,0.999 7,1.000 0,n=6).平均加样回收分别为 97.82%(RSD=1.28%),97.92%(RSD=1.62%),97.07%(RSD=0.82%),96.58%(RSD=1.45%).TLC 法及 HPLC 法操作简便、准确、重复性好,可对七龙天胶囊进行质量控制.

关键词:七龙天胶囊;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法
中图分类号:R286.0　**文献标识码**:A　**文章编号**:1674-5639(2014)06-0076-04

Study on Quality Standard of Qilongtian Capsules

YU Xiao-ling, FU Yi*, WEI Dan-xia, ZOU Yu-lei
(Third Affiliated Hospital, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Yunnan Kunming 650011, China)

Abstract: Applying the method of chromatography of thin-layer (TLC) made the qualitative identification of pberetima in Qilongtian capsules. The results show that on the corresponding position on TLC, pberetima with the contrasted drug has the similar color spot and without any interfere with negative contrast. Also applying the method of chromatography of high performance liquid (HPLC) identified the quality mass of notoginsenoside R_1, ginsenoside Rg_1, ginsenoside Rb_1 and salidroside in qilongtian capsules in the prescription. The results show the HPLC linear ranges of notoginsenoside R_1, ginsenoside Rg_1, ginsenoside Rb_1 and salidroside were 0.178—3.560 μg, 0.539—10.780 μg, 0.430—8.600 μg, 0.206—4.120 μg, respectively, and r were 0.999 7, 0.9997, 0.999 8, 1.000 0 (n=6) respectively. The average recoveries were 97.82% (RSD of 1.28%) for notoginsenoside R_1, 97.07% (RSD of 0.82%) for ginsenoside Rg_1, 97.92% (RSD of 1.26%) for ginsenoside Rb_1, 96.58% (RSD of 1.45%) for salidroside respectively. The TLC and HPLC method is proved to be sensitive, accurate, repeatable, and can be used for quality control of the Qilongtian capsules.

Key words: qilongtian capsules; quality standard; chromatography of thin-layer; chromatography of high performance liquid

七龙天胶囊是我院研制的纯中药制剂,由三七、红景天、地龙等组成,具有益气通络,化瘀消痰之功效.为更好地控制药品质量以及满足最新制剂规范要求,本文对七龙天胶囊进行定性鉴别及有效成分质量分数测定的实验研究.

1　试药与仪器

1.1　仪器

BP211D 型电子天平(德国 Sartorius);TIANHE KromasiL C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);SK 5 200 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司,频率 50 kHz,功率 300 W).高效液相色谱仪(Agilent 1100 型、自动进样器、DAD 检测器、恒温柱温箱).

1.2　药品与试药

七龙天胶囊(批号:130616,130813,131014,规格:每粒 0.4 g);阴性样品制备除三七、红景天、地龙外其他药材以处方量按样品制备工艺制得;乙腈为色谱纯;其他试剂均为国产分析纯.

1.3　对照品

地龙对照药材(编号:120987~200906);三七皂苷 R_1(批号:110745~200617)、人参皂苷 Rb_1(批号:110704~200921)、人参皂苷 Rg_1(批号:110703~200726)、红景天苷(编号:110818~200404),上述对照品均购自中国药品生物制品检定所.

2　方法与结果

2.1　鉴别[1]

取本品 20 粒,倾出内容物,研细混匀,称取 2.0 g,置于具塞锥形瓶中,加甲醇 20 mL,在功率 300 W、频率 50 kHz 的条件下超声 20 min,滤

收稿日期:2014-10-13
基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160467).
作者简介:余晓玲(1971—),女,云南昆明人,主任中药师,主要从事中药学研究.
*通讯作者:付义(1975—),男,山东寿光人,主任医师,博士,主要从事中医肺病研究,E-mail:fukeyi_27@163.com.

过,将滤液蒸干,残渣加入 1 mL 甲醇使其溶解,作为供试品溶液. 取缺地龙的阴性样品 2.0 g 及地龙对照药材 0.4 g,分别按供试品溶液的配制方法制得阴性样品溶液及对照药材溶液. 实验方法参照《中华人民共和国药典》(2010 版)[2]中的薄层色谱法. 实验时先将上述 3 种溶液各吸取 5 μL,分别点于同一块硅胶 G 薄层板上,再以 V(甲苯):V(丙酮) = 10:1 为展开剂,展开,取出晾干,在波长为 365 nm 的紫外灯下检视. 将对照药材色谱与供试品色谱进行对比,在相应的位置上有相同颜色的斑点显示,而阴性样品在相应的位置上无此斑点,结果见下图 1.

2.2　质量分数测定

制剂处方中三七及红景天为主药,故选择其有效成分三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1、人参皂苷 Rb_1 及红景天苷为质量分数测定指标进行实验研究. 方法按《中华人民共和国药典》(2010 版)[2]三七含量(质量分数)规定的方法,以及参照有关文献办法[3-4]进行测定.

2.2.1　溶液制备

1)对照品溶液制备. 精密称取红景天苷对照品适量,然后精密加入加甲醇,制得质量浓度为 0.206 mg/mL 的红景天苷对照品溶液. 再精密称取 R_1 及 Rg_1 和 Rb_1 的混合对照品适量,加入甲醇后制得质量浓度为 0.17 mg/mL 的三七皂苷 R_1 和 0.42 mg/mL的人参皂苷 Rb_1 及 0.5 mg/mL 的人参皂苷 Rg_1 的混合对照品溶液.

2)供试品溶液制备. 取七龙天胶囊 40 粒,平均分成 2 份,分别取内容物先研细混匀,各取约 1.0 g,精密称定,置 2 个具塞锥形瓶中;各自精密加入甲醇 50 mL,精密称其质量,在频率 50 kHz、功率 250 W 条件下超声处理 30 min,放冷后,用甲醇补足缺失质量. 将其中 1 份摇匀,过滤并取续滤液,得供试品溶液(①)[3]. 取另 1 份精密量取的续滤液 25 mL,蒸干后的残渣用水 25 mL 溶解,定量转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇溶液振摇提取 5 次(25,25,15,15,15 mL),合并 5 次正丁醇液,定量转移至分液漏斗中,最后再用氨试液 50 mL 洗涤,共洗涤 2 次,留正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶解,转入 10 mL 容量瓶,加甲醇定容,摇匀,滤过,取续滤液,制得供试品溶液(②)[2].

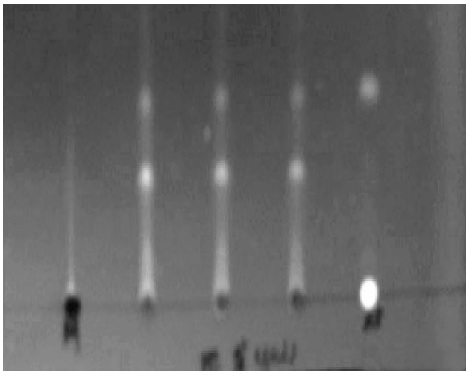
3)阴性溶液的制备. 按处方规定剂量称取除三七及红景天以外的所有药材,然后按上述供试品溶液制备方法①,②制得阴性样品溶液.

2.2.2　实验方法

1)色谱条件考察. (a)三七. 参照文献[2]及预实验,选用梯度洗脱,以乙腈为流动相 A,以水为流动相 B,按表 1 中的规定进行梯度洗脱.

表 1　流动相梯度

时间/ min	A/%	B/%
0	20	80
30	20	80
40	24	76
75	35	65



1　2　3　4　5

1:阴性对照溶液;2~4:七龙天胶囊3批样品;5:地龙对照药材

图1　地龙TLC鉴别图

用 TIANHE KromasiL C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),以表 1 流动相进行梯度洗脱,柱温 25 ℃,流速 1.0 mL/min,检测波长为 203 nm. 分别取三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rb_1 和 Rg_1 对照品及供试品适量,依照 2.2.1 项下方法分别配制供试品和对照品溶液,分别取 10 μL 注入液相色谱仪,测定. 理论板数按三七皂苷 R_1 峰计算,均应不低于 6 000.

(b)红景天. 根据文献[4]及预实验结果选用 V(乙腈):V(水) = 7:93 为流动相,用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流速 1.0 mL/min,柱温 25 ℃,检测波长为 220 nm,理论板数应不低于 2 000. 分别取红景天苷供试品、对照品适量依照 2.2.1 项下方法配制供试品和对照品溶液,取 10 μL 分别注入液相色谱仪,进行测定.

2)系统适用性实验. 在上述各自色谱条件下,分别精密吸取 2 种药材成分的阴性对照品溶液、供试品、对照品各 10 μL 注入液相色谱仪,记录图谱. 实验结果表明,供试品的色谱峰与对照品色谱峰的相对保留时间一致,阴性对照品在相同保留时间位置上,没有出现相应吸收峰. 结果理论板数、分离度和拖尾因子均符合要求,在各自色谱条件下,样品得到良好分离. 色谱图见图 2 ~ 图 5.

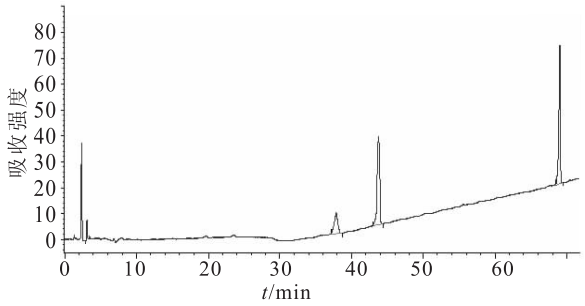


图2 三七皂苷R_1、人参皂苷Rg_1、人参皂苷Rb_1混合对照品色谱图

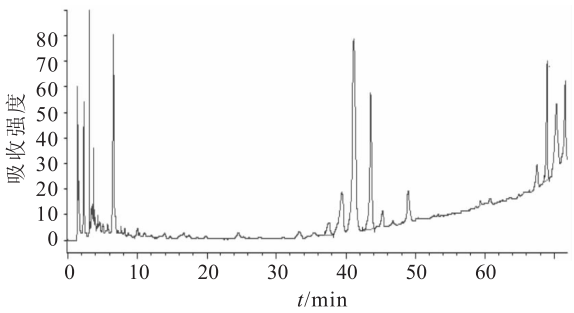


图3 七龙天胶囊色谱图(三七总皂苷)

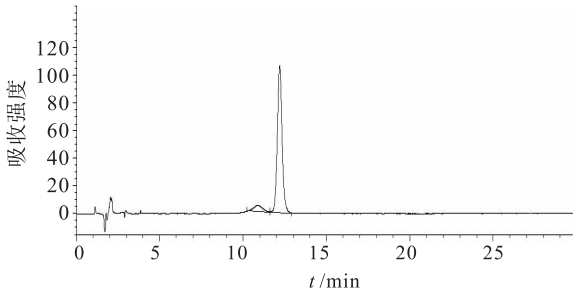


图4 红景天苷对照品溶液色谱图

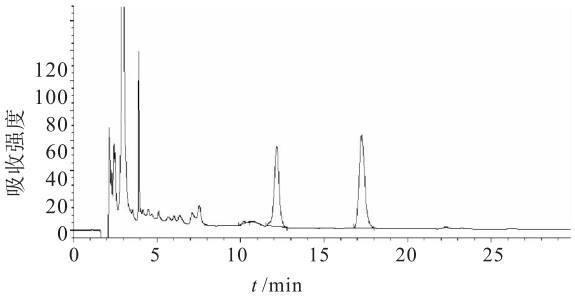


图5 七龙天胶囊色谱图(红景天苷)

2.2.3 线性关系考察

分别精密吸取红景天苷和三七总皂苷对照品溶液 1,2,5,10,15,20 μL,依次注入液相色谱仪,其峰面积按上述色谱条件测定. 以峰面积(A)为纵坐标,进样量(C)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程. 结果见表 2.

表 2 4 种成分线性关系实验结果

对照品	回归方程	线性范围/μg	相关系数(r)
三七皂苷 R_1	$A=278.350\ C+12.313$	0.178~3.560	0.999 7
人参皂苷 Rg_1	$A=268.520\ C+28.011$	0.539~10.780	0.999 7
人参皂苷 Rb_1	$A=254.730\ C-2.685$	0.430~8.600	0.999 8
红景天苷	$A=1\ 024.500\ C+15.714$	0.206~4.120	1.000 0

2.2.4 精密度实验

取同一批七龙天胶囊(批号:130616),进行中间精密度考察,结果三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1 和 Rb_1、红景天苷的质量分数及 *RSD* 分别为:0.201%,1.76%;0.969%,1.56%;0.755%,1.49%;0.618%,1.41%.

2.2.5 重复性实验

取同一批七龙天胶囊(批号:130616)50 粒,倾出内容物,研细后混合均匀,再平均分为 6 份,每份约 1.0 g,然后精密称定,再按 2.2.1 项下方法制得供试液,测定其质量分数. 测得三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1 和 Rb_1、红景天苷的 *RSD* 分别为 1.63%,1.55%,1.83%,1.39%.

2.2.6 稳定性实验

取批号为 130616 供试品适量,分别配制 4 种成分的供试品溶液,置棕色量瓶中密闭保存,常温下分别于第 0,4,8,12,16 h,精密吸取供试品和混合对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,再按各自的色谱条件进行测定,计算峰面积及 *RSD*. 结果显示:对照品中三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1 和 Rb_1、红景天苷的峰面积 *RSD* 在 16 h 内分别为 0.500%,0.330%,0.550%,0.376%;供试品中三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1 和 Rb_1、红景天苷的峰面积 *RSD* 在 16 h 内分别为 0.920%,0.720%,1.230%,0.699%. 说明 4 种成分的溶液在避光密闭容器中保存 16 h 后仍非常稳定.

2.2.7 加样回收实验

取同一批已知质量分数的七龙天胶囊(批号 130616,红景天苷 6.21 mg/g、人参皂苷 Rg_1 9.767 mg/g、人参皂苷 Rb_1 7.530 mg/g,三七皂苷 R_1 2.018 mg/g)25 粒,取出内容物,研细,混匀,取粉末 6 份,每份约 0.5 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入对照品溶液(三七皂苷 R_1 11.5 mg、人参皂苷 Rg_1 43.6 mg、人参皂苷 Rb_1 41.0 mg、红景天苷 30.02 mg→100 mL 甲醇液)10 mL,每份都精密加入甲醇至 50 mL,按 2.2.1 项下方法制得供试液,取 10 μL 注入液相色谱仪测定质量分数,计算回收率. 结果见表 3.

表 3　三七总皂苷、红景天苷回收率实验结果

测定成分	$m_{取样}$/g	$m_{样}$/mg	$m_{加入}$/mg	$m_{测}$/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
三七皂苷 R_1	0.503 8	1.016 7	1.150	2.143	97.92	97.82	1.28
	0.520 6	1.050 6		2.178	98.08		
	0.492 3	0.993 5		2.143	99.93		
	0.505 7	1.020 5		2.145	97.77		
	0.500 9	1.010 8		2.117	96.17		
	0.523 5	1.056 4		2.173	97.07		
人参皂苷 Rg_1	0.503 8	4.920 6	4.360	9.179	97.66	97.07	0.82
	0.5206	5.0847		9.308	96.86		
	0.492 3	4.808 3		9.044	97.16		
	0.505 7	4.939 2		9.160	96.81		
	0.500 9	4.892 3		9.070	95.82		
	0.523 5	5.113 0		9.392	98.14		
人参皂苷 Rb_1	0.503 8	3.793 6	4.100	7.805	97.82	97.92	1.62
	0.520 6	3.920 1		7.987	99.20		
	0.492 3	3.707 0		7.661	96.43		
	0.505 7	3.807 9		7.915	100.17		
	0.500 9	3.771 8		7.709	96.02		
	0.523 5	3.941 9		7.955	97.88		
红景天苷	0.521 2	3.236 6	3.002	6.158	97.31	96.58	1.45
	0.547 6	3.400 6		6.311	96.95		
	0.542 1	3.366 4		6.219	95.01		
	0.531 8	3.302 5		6.158	95.11		
	0.519 8	3.228 0		6.122	96.39		
	0.498 7	3.096 9		6.060	98.70		

2.2.8　样品质量分数测定

取七龙天胶囊 3 批(每批测定两次,即 $n=2$),测定三七总皂苷总质量分数(三七皂苷 R_1 + 人参皂苷 Rg_1 + 人参皂苷 Rb_1)和红景天苷质量分数,并计算每粒质量分数(每粒按 0.4 g 计算),结果见表 4 和表 5.

表 4　三七总皂苷质量分数　　mg/粒

批 号	Ⅰ号样	Ⅱ号样	平均
130616	7.72	7.66	7.69
130813	6.77	6.84	6.80
131014	7.09	7.21	7.15
平均	—	—	7.21

表 5　红景天苷质量分数　　mg/粒

批号	Ⅰ号样	Ⅱ号样	平均
130616	2.48	2.42	2.45
130813	2.29	2.24	2.26
131014	2.21	2.25	2.23
平均	—	—	2.31

3　小结与讨论

1)本制剂主药为三七、地龙、红景天,而地龙目前尚无含量(质量分数)测定指标,故对其进行了 TLC 鉴别. 结果显示,斑点清晰,分离效果好. 可作为该制剂的定性检测指标. 采用高效液相色谱法测定三七的主要有效成分人参皂苷 Rg_1、人参皂苷 Rb_1、三七皂苷 R_1 总质量分数及红景天主要有效成分红景天苷的质量分数作为该制剂定量检测指标,能够更好地保证该制剂的质量.

2)在三七质量分数测定过程中,曾采用以 V(乙腈):V(水) = 20:80 为流动相,结果杂质峰很多,峰形不理想,经过多次实验,最终采用 V(乙腈):V(水)为流动相进行梯度洗脱,结果分离度较理想,峰形较好. 另外,在红景天质量分数测定中,比较了 V(乙腈):V(0.1% 磷酸溶液) = 7:93)、V(乙腈):(水) = 9:91两种流动相,结果前者峰小且在 2 min 左右出峰. V(乙腈): V(水) = 9:91 为流动相,则峰形好且出峰时间较为合适,故选择其作为流动相.

[参考文献]

[1]江丰,袁飞峰. 地虎前列颗粒的薄层色谱鉴别[J]. 江西中医药,2010,41(2):64 - 65.

[2]国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010.

[3]王苏会,闫荟,王瑞,等. HPLC 测定四珍力维胶囊中红景天苷含量[J]. 中国中药杂志,2008,33(5):584 - 585.

[4]刘晔,杨建云,王文波,等. RP-HPLC 法测定高山红景天苷含量的研究[J]. 中医药学刊,2002,20(6):863 - 864.