

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)14-0080-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.14.019



心脉舒一号口服液质量标准提升研究*

唐勇琛^{1,2}, 张洪平^{1,2}, 毛桂福^{1,2}, 樊玲凤³, 杨玉竹³, 张亚洲^{3,Δ}

(1. 广西壮族自治区柳州市中医医院·广西壮族自治区柳州市壮医医院, 广西 柳州 545000; 2. 广西壮族自治区柳州市中药<壮瑶药>制剂开发工程技术研究中心, 广西 柳州 545000; 3. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025)

摘要:目的 提升心脉舒一号口服液的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的麦冬、五味子;以芦丁、D(+)-无水葡萄糖为对照品,采用紫外-可见分光光度(UV-Vis)法,分别在504,490 nm波长处测定制剂中总黄酮、总多糖的含量。结果 麦冬、五味子的TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。芦丁、D(+)-无水葡萄糖质量浓度分别在0.0167~0.0585 mg/mL ($R^2=0.9993, n=6$)和0.0027~0.0162 mg/mL ($R^2=0.9879, n=6$)范围内与吸光度线性关系良好。精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于1.0%;平均加样回收率分别为99.85%和99.80%,RSD分别为0.04%和0.22% ($n=6$);19批制剂中总黄酮、总多糖的平均含量分别为0.695,22.30 mg/mL。结论 该方法操作简便,灵敏度高,精密性、稳定性、重复性均较好,可用于心脉舒一号口服液的质量控制。

关键词:心脉舒一号口服液;薄层色谱法;紫外-可见分光光度法;总黄酮;总多糖;质量控制

Improvement of Quality Standard of Xinmaishu Yihao Oral Liquid

TANG Yongchen^{1,2}, ZHANG Hongping^{1,2}, MAO Guifu^{1,2}, FAN Lingfeng³, YANG Yuzhu³, ZHANG Yazhou³

(1. Traditional Medical Hospital of Liuzhou · Liuzhou Zhuang Medical Hospital, Liuzhou, Guangxi, China 545000; 2. Liuzhou Engineering Research Center for Preparation Technology of Chinese Materia Medica < Zhuang and Yao >, Liuzhou, Guangxi, China 545000; 3. Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou, China 550025)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Xinmaishu Yihao Oral Liquid. **Methods** Ophiopogonis Radix and Schisandrae Chinensis Fructus in the preparation were qualitatively identified by the thin layer chromatography (TLC) method. With rutin and D (+) - anhydrous glucose as the reference, the contents of total flavonoids and total polysaccharides in the preparation were determined by the ultraviolet - visible spectroscopy (UV - Vis) at wavelengths of 504, 490 nm, respectively. **Results** The TLC chromatograms of Ophiopogonis Radix and Schisandrae Chinensis Fructus showed clear spots, good resolution, and there was no interference from the negative reference. The linear ranges of rutin and D (+) - anhydrous glucose were 0.0167 - 0.0585 mg / mL ($R^2 = 0.9993, n = 6$), 0.0027 - 0.0162 mg / mL ($R^2 = 0.9879, n = 6$) respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 1.0%. The average recovery rates of total flavonoids and total polysaccharides were 99.85% and 99.80%, with the RSDs of 0.04% and 0.22% ($n = 6$) respectively. The average contents of total flavonoids and total polysaccharides in 19 batches of preparation were 0.695, 22.30 mg / mL respectively. **Conclusion** This method is easy, sensitive, precise, stable and repeatable, which can be used for the quality control of Xinmaishu Yihao Oral Liquid.

Key words: Xinmaishu Yihao Oral Liquid; TLC; UV - Vis; total flavonoids; total polysaccharides; quality control

随着人们生活水平的提高,我国心血管疾病(CVD)发病率持续增长,已成为严重的公共卫生问题^[1]。近年来,传统中医药在CVD的防治中发挥了重要作用,柳州市中医医院特色中药制剂心脉舒一号口服液以宋代陈自明《妇人大全良方》中天王补心丹为基础化裁而成,由生地黄、天冬、麦冬、柏子仁、酸枣仁、当归、丹参、茯苓、太子参、白芍、五味子11味中药组方,有补气养阴、活血通络、宁心安神功效,主要用于治疗伴有心悸、胸闷、气短乏力、心烦口干、失眠多梦等症

的心脏病。现代药理学研究表明,总黄酮类成分有调节血管舒张、保护血管内皮细胞、抗高血压、抗缺血性心肌损伤、抗心律失常等作用^[2-3],总多糖类成分有保护血管内皮细胞、促进血管生成、抗动脉粥样硬化、抗心肌缺血等作用^[4-5],以上药理作用与该制剂防治心脏病的功效完全吻合。然而该制剂现行质量标准仅有性状、检查和简单的理化鉴别^[6-10],难以全面控制其质量。为此,本研究中采用薄层色谱(TLC)法鉴别制剂中麦冬、五味子药材,采用紫外-可见分光光度(UV-Vis)法测

*基金项目:广西壮族自治区柳州市科技计划项目[2020NBAA0807]。

第一作者:唐勇琛,男,硕士,副主任药师,研究方向为中药新制剂开发与质量控制,(电子信箱)710917353@qq.com。

Δ通信作者:张亚洲,男,博士,副教授,研究方向为食品与药物的研发,(电子信箱)670566181@qq.com。

定总黄酮、总多糖的含量,以更好地评价其内在质量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UV-2550型紫外-可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司);ZF-I型三用紫外分析仪(杭州齐威仪器有限公司);BCE95PI-10CN型电子天平(赛多利斯科学仪器<北京>有限公司,精度为0.01 mg);RCHL-1-40L型超纯水仪(成都瑞昌仪器制造有限公司);XMTD-8222型数显恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);RV-211M型旋转蒸发仪(北京信凯科技有限公司);KQ5200E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

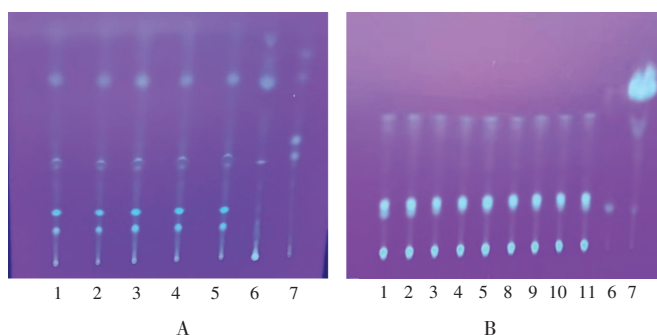
1.2 试药

心脉舒一号口服液(医院制剂室,批号分别为20200901, 20201101, 20201201, 20210101, 20210102, 20210201, 20210301, 20210401, 20210402, 20210501, 20210601, 20210701, 20210702, 20210801, 20210901, 20211001, 20211002, 20211101, 20211102);芦丁对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号为Y16M9S61523,含量98%);D(+)-无水葡萄糖对照品(天津市永大化学试剂有限公司,批号为20220604,含量99.8%);麦冬对照药材(批号为121013-201711)、五味子对照药材(批号为120922-201610),均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板、硅胶GF₂₅₄薄层板(青岛海洋化工厂);甲醇、乙醇、乙酸乙酯、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、苯酚、浓硫酸等均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

麦冬^[11]:取样品(批号为20200901)30 mL,蒸干,加二氯甲烷-甲醇溶液(7:3, V/V)20 mL,浸泡12 min,超声(功率200 W、频率40 kHz,下同)处理35 min,滤过,蒸干,残渣加1 mL二氯甲烷使溶解,作为供试品溶液。取麦冬对照药材2 g,加入二氯甲烷-甲醇溶液(7:3, V/V)20 mL,同供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。按心脉舒一号口服液处方和工艺制备缺麦冬的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取上述3种溶液各10 μL,依次点于同一硅胶G薄层板上,预饱和20 min,以二氯甲烷-石油醚(60~90℃)-甲醇-冰醋酸(60:25:5:0.1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 A。



1-5,8-11. 供试品溶液 6. 对照药材溶液 7. 阴性对照品溶液

A. 麦冬 B. 五味子

图1 薄层色谱图

1-5,8-11. Test solution 6. Reference medicinal material solution

7. Negative reference solution

A. Ophiopogonis Radix B. Schisandrae Chinensis Fructus

Fig.1 TLC chromatograms

五味子^[11]:取样品(批号为20200901)40 mL,蒸干,加二氯甲烷20 mL,超声处理35 min,滤过,蒸干,残渣加二氯甲烷1 mL使溶解,作为供试品溶液。取五味子对照药材2 g,加二氯甲烷20 mL,同供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。按心脉舒一号口服液处方和工艺制备缺五味子的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取上述3种溶液各10 μL,依次点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,预饱和20 min,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-冰醋酸-甲酸(10:10:1:1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。结果供试品溶液色谱在与对照药材溶液色谱相应位置显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 B。

2.2 含量测定^[12-14]

2.2.1 溶液制备

取芦丁对照品104.50 mg,精密称定,置25 mL棕色容量瓶中,加水溶解并定容,取5 mL,置50 mL棕色容量瓶中,加水定容,摇匀,即得每1 mL中含0.418 mg的对照品溶液。取D(+)-无水葡萄糖对照品27.00 mg,精密称定,置250 mL容量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,即得每1 mL中含0.108 mg的D(+)-无水葡萄糖对照品溶液。取样品1 mL,置50 mL棕色容量瓶中,精密加入25 mL甲醇,摇匀,称定质量,超声处理20 min,放冷,用甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液,即得供试品溶液I。取样品0.5 mL,加95%乙醇20 mL,超声处理1 h除去单糖和低聚糖,趁热滤过,用30 mL热的95%乙醇分次洗涤滤渣及滤器后,将滤渣连同滤纸置锥形瓶中,加水60 mL,超声处理1 h,趁热滤过,滤液移至100 mL棕色容量瓶中,再将残渣用水洗涤2次,洗液并入容量瓶中,定容,即得供试品溶液II。

2.2.2 检测波长确定^[15-19]

取2.2.1项下2种对照品溶液及2种供试品溶液,在200~800 nm波长范围内扫描。结果显示,芦丁与总黄酮及D(+)-无水葡萄糖与总多糖的最大吸收峰位置均一致,分别在504,490 nm波长处有最大吸收。故最终确定总黄酮、总多糖含量测定波长分别为504,490 nm。

2.2.3 方法学考察

线性关系考察:1)总黄酮^[16,20]。分别精密量取2.2.1项下芦丁对照品溶液1,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 mL,置25 mL棕色容量瓶中,加水至6.0 mL,加入5%亚硝酸钠溶液1.0 mL,摇匀,静置6 min;加入10%硝酸铝溶液1 mL,摇匀,静置6 min;加入10%氢氧化钠溶液10 mL,加水定容,摇匀,静置15 min。选择相应试剂为空白对照,按2020年版《中国药典(四部)》通则0401 UV-Vis法,以质量浓度(C_1 , mg/mL)为横坐标、吸光度(A_1)为纵坐标,于504 nm波长处测定吸光度并进行线性回归,得回归方程 $A_1 = 11.598 C_1 - 0.0089 (R^2 = 0.9993, n = 6)$ 。结果表明,芦丁质量浓度在0.0167~0.0585 mg/mL范围内与吸光度线性关系良好。2)总多糖^[21-22]。分别精密量取2.2.1项下D(+)-无水葡萄糖对照品溶液0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL,置10 mL具塞试管中,加水至2.0 mL,加入5%苯酚溶液1.0 mL,轻微振荡摇匀;迅速加入浓硫酸5.0 mL,轻微振荡摇匀,静置10 min,40 °C水浴加热15 min,取出,迅速冷却至室温。以相应试剂为空白对照,根据2020年版《中国药典(四部)》通则0401 UV-Vis法,以质量浓度(C_2 , mg/mL)为横坐标、吸光度(A_2)为纵坐标,于490 nm波长处测定吸光度,并进行线性回归,得回归方程 $A_2 = 11.598 C_2 + 0.0969 (R^2 = 0.9879, n = 6)$ 。结果表明,D(+)-无水葡萄糖质量浓度在0.0027~0.0162 mg/mL范围内与吸光度线性关系良好。

精密度试验:分别精密量取2.2.1项下2种对照品溶液各适量,分别按2.2.2项下检测波长连续进样测定6次,记录吸光度,结果吸光度分别为0.378,0.439,RSD分别为0.24%,0.25%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验^[16-17,22]:精密量取2.2.1项下供试品溶液I适量,分别于室温下放置0,30,60,90,120,150 min时在504 nm波长处测定吸光度。结果芦丁的吸光度为0.323,RSD为0.58%($n = 6$),表明供试品溶液I在室温放置150 min内较稳定。精密量取2.2.1项下供试品溶液II适量,分别于室温下放置0,20,40,60,90,120 min时在490 nm波长处测定吸光度。结果D(+)-无水葡萄糖的吸光度为0.754,RSD为0.16%($n = 6$),表明供试品溶液II在室温放置120 min内较稳定。

重复性试验:精密量取样品(批号为20200901)适量,共6份,按2.2.1项下方法制备供试品溶液I、II,按2.2.2项下检测波长测定吸光度。结果芦丁、D(+)-无水葡萄糖的平均含量分别为0.716,22.650 mg/mL,RSD分别为0.23%,0.18%($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品适量,共6份,分别加入一定质量浓度的待测成分对照品溶液,按2.2.1项下方法制备供试品溶液,再按2.2.2项下检测波长进样测定,记录吸光度,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n = 6$)

待测成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
芦丁	7.160	5.730	12.880	99.82	99.85	0.04
	7.160	5.724	12.876	99.86		
	7.160	7.156	14.309	99.90		
	7.160	7.162	14.314	99.89		
	7.160	8.599	15.741	99.79		
	7.160	8.587	15.733	99.84		
D(+)- 无水葡 萄糖	5.662	4.536	10.172	99.43	99.80	0.22
	5.662	4.536	10.192	99.88		
	5.662	4.536	10.194	99.91		
	5.662	5.645	11.288	99.67		
	5.662	5.645	11.309	100.04		
	5.662	5.645	11.298	99.84		

2.2.4 样品含量测定

取19批样品各适量,按2.2.1项下方法制备供试品溶液,再按2.2.2项下检测波长进样测定,平行测定3次,记录吸光度,并计算样品含量,结果见表2。

3 讨论

预试验中考察了不同提取方法、提取溶剂、展开系统、薄层板等对TLC鉴别结果的影响,排除了分离效果

表2 样品中总黄酮和总多糖含量测定结果(mg/mL, $n = 3$)

Tab.2 Results of content determination of total flavonoids and total polysaccharides in samples (mg/mL, $n = 3$)					
批号	总黄酮	总多糖	批号	总黄酮	总多糖
20200901	0.716	22.65	20210601	0.673	22.57
20201101	0.693	22.42	20210701	0.762	22.05
20201201	0.617	22.34	20210702	0.781	22.27
20210101	0.757	22.14	20210801	0.746	21.93
20210102	0.536	22.27	20210901	0.661	21.97
20210201	0.674	22.40	20211001	0.776	22.30
20210301	0.710	22.61	20211002	0.659	22.38
20210401	0.558	22.30	20211101	0.715	22.59
20210402	0.704	22.10	20211102	0.734	22.50
20210501	0.739	21.82	\bar{X}	0.695	22.30

差、斑点不清晰及阴性对照存在干扰的鉴别项,最终将麦冬、五味子药材的TLC鉴别纳入质量标准考察。在鉴别麦冬时,分别考察了不同提取方法(回流提取、超声提取),不同提取溶剂(三氯甲烷-甲醇混合溶液、二氯甲烷-甲醇混合溶液、乙酸乙酯-甲醇混合溶液),不同提取时间(15, 25, 35, 45 min),不同展开系统[甲苯-甲醇-冰醋酸(80:5:1, V/V/V), 二氯甲烷-甲醇-冰醋酸(60:5:0.1, V/V/V), 二氯甲烷-石油醚(60~90℃)-甲醇-冰醋酸(60:25:5:0.1, V/V/V/V), 二氯甲烷-石油醚(60~90℃)-甲醇-冰醋酸(70:30:5:0.1, V/V/V/V)],不同薄层板(硅胶G薄层板、硅胶GF₂₅₄薄层板),不同点样量(2, 5, 10 μL),不同点样方式(圆点状、条带状)对鉴别效果的影响;在鉴别五味子时,分别考察了不同提取方法(加热回流提取、超声提取),不同提取溶剂(三氯甲烷、二氯甲烷、乙酸乙酯),不同提取时间(15, 25, 35, 45 min),不同展开系统[石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1, V/V/V), 石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-冰乙酸(15:15:1, V/V/V), 石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-冰乙酸-甲酸(15:15:1:1, V/V/V/V), 石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-冰乙酸-甲酸(10:10:1:1, V/V/V/V)],不同薄层板(硅胶G薄层板、硅胶GF₂₅₄薄层板),不同点样量(2, 5, 10 μL),不同点样方式(圆点状、条带状)对鉴别效果的影响。结果表明,筛选出的麦冬、五味子TLC鉴别条件,其提取和分离效果均较好、斑点显色较清晰、重复性好,可用于心脉舒一号口服液的定性鉴别。

测定含量时,对制备总黄酮供试品溶液的样品提取方法(超声和回流)、提取溶剂(甲醇和95%乙醇)及提取时间(20, 30, 60 min)进行了初步考察。结果表明,超声提取的总黄酮含量略高于回流提取,且超声提取简单、快速,故采用超声提取方法;甲醇提取的总黄酮含量优于95%乙醇提取,且提取20 min时已基本提取完全,故选择甲醇为提取溶剂提取20 min。植物药中含有的总黄酮、总多糖类成分为防治心血管系统疾病的主要活性组分^[2-5],故以此作为本试验中的待测成分。结果表明,不同批次样品的总黄酮、总多糖含量差异较小,且含量均较高。

综上所述,该方法简便,灵敏度高,精密度、稳定性、重复性较好,可为心脉舒一号口服液的质量评价及质量标准提升提供参考。

参考文献

[1] 马丽媛,王增武,樊静,等.《中国心血管健康与疾病报告2022》要点解读[J]. 中国全科医学,2023,26(32):3975-3994.
[2] 李明奇,赵晓璐,高晓阳,等. 植物药总黄酮的药理作用机制

及应用进展[J]. 中华中医药学刊,2024,42(1):200-204.

[3] 张怀民,杨虹,郑海洲. 天然黄酮类化合物防治心脑血管疾病的研究进展[J]. 中国新药与临床杂志,2016,35(10):704-708.
[4] 孙敏,吴国泰,杜丽东,等. 黄芪在心血管系统方面的药理活性研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报,2018,35(5):91-94.
[5] 张琴,李美东,罗凯,等. 植物多糖生物活性功能研究进展[J]. 湖北农业科学,2020,59(24):5-8.
[6] 刘信秋,李思光,尹安坤,等. 柴芍理气和胃合剂质量标准研究[J]. 中国药业,2023,32(12):72-75.
[7] 汪艳,王蕊晖,杜赛. 河车大造胶囊质量标准研究[J]. 中国药业,2023,32(7):81-85.
[8] 韩宇强,陈国,莫合军. 一种桂龙药膏的质量控制方法:CN114384165A[P]. 2022-04-22.
[9] 林德晖. 戒瘾解毒胶囊的质量标准研究[D]. 广州:广州中医药大学,2012.
[10] 赵艳普,李冬梅,冯丽,等. 滑膜炎系列制剂的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业,2011,20(22):52-53.
[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:68,162.
[12] 孙云波,张创峰. 莲花清瘟胶囊中总黄酮、总皂苷和总多糖含量测定方法研究[J]. 中国医药导报,2023,20(15):115-117.
[13] 李杰,杨育儒,王庆芬,等. 紫外-可见分光光度法测定防暑清热饮中总黄酮和总多糖含量[J]. 药学实践杂志,2020,38(1):63-66.
[14] 杨秀娟,杨志军,牛鹏贤,等. 甘肃不同产地红芪中总黄酮及总多糖含量测定研究[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(2):79-82.
[15] 严成,黄桦,黄蓓,等. 溪边凤尾蕨总黄酮含量测定方法的建立及提取工艺研究[J]. 贵州中医药大学学报,2023,45(2):31-35.
[16] 姜特,黄颖,李军,等. 黔产追风伞总黄酮含量测定[J]. 贵州科学,2023,41(3):28-32.
[17] 牛晓方,高一军,怀宝刚,等. 硫酸-苯酚法测定六种牡丹叶中总多糖的含量[J]. 山东农业工程学院学报,2021,38(4):33-35.
[18] 郑聪,李胜楠. 不余甘子圣女果复合饮料发酵工艺及对运动耐力的影响[J]. 食品工业科技,2022,43(4):358-365.
[19] 陶阿丽,戴一,张国升. 女贞子水提取物中有效成分及多糖含量分析[J]. 安徽农业科学,2012,40(33):16120-16122.
[20] 陈瑞鑫,蒋运斌,陈文莉,等. 不同产地独一味总黄酮的质量评价[J]. 中国药房,2023,34(4):419-422.
[21] 杜洪志,陈子愉,覃春叶,等. 不同产地对叶百部总多糖的含量测定[J]. 微量元素与健康研究,2021,38(4):31-32.
[22] 古孜丽阿依·库尔班,武嘉林. 阿胶强骨口服液中总多糖含量测定[J]. 新疆中医药,2019,37(6):55-57.

(收稿日期:2023-11-27;修回日期:2024-02-29)