

## 克伤痛搽剂质量标准研究

浙江省医学科学院(杭州 310013) 毛丽珍\* 唐红芳 徐世芳

**摘要** 对克伤痛搽剂中的三七、河蚌肉进行薄层色谱鉴别。采用大孔树脂吸附-比色法对本品中三七的有效成分三七总皂苷进行定量测定,方法简便,结果准确,可作为该制剂的质量控制方法。

**关键词** 克伤痛搽剂 三七总皂苷 大孔树脂吸附-比色法

克伤痛搽剂是由三七、河蚌肉等中药组成。根据浙江湖州地区流传的以鲜河蚌肉汁水和三七末外涂止痛的民间验方,经用现代生产方法制成的搽剂,具有清热消肿,化瘀止痛之功效,用于关节、软组织扭挫伤及跌打损伤引起的红肿疼痛。为了控制产品质量,对三七和河蚌肉进行了薄层鉴别研究,对三七进行含量测定。

### 1 仪器与试药

UV-210A 紫外-可见分光光度计(日本岛津),PBQ-1 型薄层自动铺板器。硅胶 G(青岛海洋化工厂),所用试剂均为分析纯。人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_{b_1}$  和三七皂苷  $R_1$ (中国药品生物制品检定所),氨基葡萄糖(上海东风生物技术有限公司)。样品由浙江湖州龙海生化有限公司提供。

### 2 样品供试液的制备

2.1 精密量取本品 10 mL,于水浴上浓缩至近干,加水溶解并移入 10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。精密量取 2 mL,加入已处理好的  $D_{101}$  大孔吸附树脂柱上,先用水 15 mL 洗涤,弃洗液,再以 70%乙醇 25 mL 洗脱,收集洗脱液,于水浴上挥干,残渣用甲醇溶解,转入 2 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试液(I)。另取人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_{b_1}$  及三七皂苷  $R_1$ ,加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的混合溶液,作为对照品液(II)。另取缺三七的阴性对照液 10 mL,按供

试液(I)方法制成阴性对照液(III)。

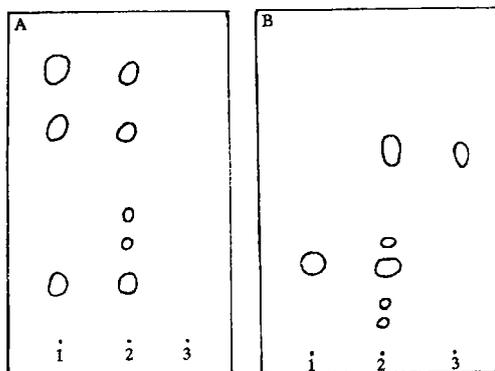
2.2 取本品 2 mL,加硫酸溶液(1 mol/L)8 mL,于水浴中加热 1 h,放冷,用氢氧化钡调节 pH 值到 7,离心,取上清液于水浴上浓缩至适量,滤过,滤液置 2 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,作为供试液(IV)。另取氨基葡萄糖对照品,加水制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液(V)。另取缺河蚌肉的阴性对照液 2 mL,按供试液(IV)方法制成阴性对照液(VI)。

### 3 薄层定性鉴别

3.1 三七的鉴别:分别吸取供试液(I)、阴性对照液(III)各 10  $\mu$ L,混合对照品溶液(II) 5  $\mu$ L,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)的上层液为展开剂,上行展开,取出,晾干,喷 10%硫酸乙醇溶液,于 105 C 烘数分钟。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点,阴性对照无干扰,结果见图 1-A。

3.2 河蚌肉的鉴别:分别吸取供试液(IV)、阴性对照液(VI)各 4  $\mu$ L,氨基葡萄糖对照品溶液(V) 2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-醋酸乙酯-异丙醇-醋酸-水(7:15:12:6:5)为展开剂,上行展开,取出晾干,喷苯胺-邻苯二甲酸试液显色。供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,结果见图 1-B。

\* Address: Mao Lizhen, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou



A-三七  
1-Rg<sub>1</sub> R<sub>b1</sub> Rb<sub>1</sub>  
2-样品  
3-阴性对照

B-河蚌肉  
1-氨基葡萄糖  
2-样品  
3-阴性对照

图1 TLC鉴别

#### 4 含量测定

4.1 洗脱剂用量的选择:供试品上柱,先用15 mL水洗去糖类和无机盐杂质,继以70%乙醇洗脱三七总皂苷。每份2 mL,逐段收集,按法测定每份洗脱液的吸收度。结果表明,洗脱至第12份可将柱上吸附的三七总皂苷几乎全部洗脱下来,因此洗脱液用量选用25 mL。

4.2 最大吸收波长的选择:将供试品溶液、人参皂苷Rb<sub>1</sub>对照品溶液和缺三七的阴性对照液,在700 nm~420 nm波长范围内扫描,从3种溶液的吸收图谱可见,前两种溶液的最大吸收波长在(545±1) nm,而阴性对照液在此波长处无吸收,故本法测定波长选择(545±1) nm。

4.3 稳定性试验:供试品溶液按法立即测定,然后每隔5 min重复测定其吸收度,结果提示,显色10 min后开始稳定,这以后的15 min内吸收度无明显变化(RSD=0.59%),一般比色法操作在15 min内可完成,因此在测定法上规定为“加冰醋酸5 mL,摇匀,放置10 min,立即测定吸收度”。

4.4 标准曲线的制备:精密吸取人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液。精密吸取10、20、30、40、60、80、100 μL分置10 mL具塞试管中,于水浴中挥去溶剂,加入新配制的5%香草醛冰醋酸溶

液0.2 mL,高氯酸0.8 mL,于60°C水浴中保温15 min,取出立即置冰水浴冷却5 min,加冰醋酸5 mL,摇匀,放置10 min,在545 nm波长处立即测定吸收度。经计算,回归方程 $C=33.46A+0.337$ , $r=0.9999$ ,人参皂苷Rg<sub>1</sub>在1.88 μg/mL~18.85 μg/mL范围内线性良好。

4.5 样品测定法拟定:按上述2.1中供试液(I)方法进行样品前处理。精密量取该溶液40 μL置10 mL具塞试管中,于水浴上挥去溶剂,自“加入新配制5%香草醛冰醋酸溶液0.2 mL起,照标准曲线制备项下操作,以回归方程计算含量。”

4.6 重现性试验:取同一批号(950208)样品,一式6份,依法测定,测得三七总皂苷(以人参皂苷Rg<sub>1</sub>计)的均值为1.313 mg/mL, RSD为1.24%。

4.7 回收率试验:精密量取已知含量的样品(950208)1 mL,置蒸发皿中,精密加入浓度为1.131 mg/mL的人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品溶液1 mL,水浴蒸干,残渣用2 mL水溶解并移入已处理好的D<sub>101</sub>大孔吸附树脂柱上,依法测定,一式5份,结果 $\bar{X}=97.91\%$ , RSD=0.94%(n=5)。

4.8 样品测定:取6批样品,依法测定,结果见表1。

表1 样品测定结果

批号	含量(mg/mL)	RSD(%)	n
950206	1.315	0.38	3
950207	1.392	1.27	3
950208	1.313	1.24	6
970102	1.583	1.59	3
970106	1.590	2.18	3
970109	1.603	0.72	3

#### 5 讨论

5.1 河蚌肉的蛋白质含量和多糖成分的测定均受到三七所含氨基酸和多糖的干扰而失去质控意义,因此选择三七总皂苷为本品的质控指标。据《本草纲目》记载,三七能“止血,散血,定痛,金刃箭伤,跌打杖创,血出不止者,嚼烂涂或为末渗之”。现代药理研究证明,

三七总皂苷对中枢神经系统有明显抑制作用<sup>[1]</sup>和镇痛作用<sup>[2]</sup>,说明三七总皂苷是本品的有效成分之一,是针对性进行含量测定的依据。

5.2 三七总皂苷的组分,据杨崇仁报道<sup>[3]</sup>从根中分离鉴定了12种单体皂苷,对三七各单体皂苷测得值表明,三七根和根茎的皂苷均以人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 和 Rb<sub>1</sub> 为主,尤以 Rb<sub>1</sub> 最多。刘玠等报道<sup>[4]</sup>,人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 显色后的吸收图谱与三七总皂苷基本一致。本文的实验结果也证明了这一点,鉴此,选定人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 作为三七总皂苷测定的对照品。

5.3 三七总皂苷含量测定方法有:大孔树脂

吸附-比色法<sup>[5]</sup>,薄层扫描法,高效液相色谱法,超临界流体色谱法等。比较这些方法,本文选择了设备简易,方法可靠,易于掌握应用的大孔树脂吸附-比色法。

5.4 实验结果表明,本法的回收率高,重现性好,结果稳定,设备简易,适用于该产品的质量控制。

#### 参考文献

- 1 赵雅玲. 中国药理通讯,1986;3(2):13
- 2 雷伟亚,等. 中成药研究,1982;(2):37
- 3 杨崇仁,等. 药学通报,1985;20(6):337
- 4 刘 玠,等. 中医药学报,1992;(6):50
- 5 章观德,等. 中草药,1981;12(11):23

(1998-02-11 收稿)

### Studies on the Quality Standard of Keshangtong Liniment

Mao Lizhen, Tang Hongfang and Xu Shifang (Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013)

**Abstract** Keshangtong liniment (KTL) is a traditional folk recipe containing *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burk) Hoo et Tseng Sanchi and fresh water mussel as its main ingredient. It acts by clearing away heat and removing blood stasis to quench inflammation and alleviate pain. The presence of its main active constituents was identified by TLC and the total notoginseng saponin determined by macroporous resin colorimetry. Mean recovery of the assay was 97.91% (RSD=0.94%). The methods were simple with strong specificity and good reproducibility, and can be used for the formulation of a quality standard of KTL.

**Key words** Keshangtong liniment total saponins of *P. pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burk.) Hoo et Tseng Sanchi macroporous resin colorimetry

## 赤芍总苷的生产工艺条件研究

中国药品生物制品检定所(北京 100050) 马双成\*

国家中药品种保护审评委员会 邓少伟

**摘 要** 赤芍以70%乙醇回流提取,减压浓缩,过大孔吸附树脂柱,先用水洗,再用20%乙醇洗脱,收集醇洗脱液,减压浓缩得赤芍总苷,收率为5.0%,其中芍药苷的含量占本品的75%以上。

**关键词** 赤芍总苷 提取 分离 大孔树脂 芍药苷

赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 或川赤芍 *P. veitchii* Lynch 的干

\* Address: Ma Shuangcheng, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing.

马双成 男,31岁,1992年7月于中国药品生物制品检定所研究生毕业,获医学硕士学位。现在中国药品生物制品检定所中药室工作,助理研究员。主要从事中成药出口检验,中草药有效成分的提取、分离、结构鉴定,新药质量标准研究,新药制备工艺研究,药效学研究以及其它一些技术性工作。参加了“八·五”、“九·五”攻关课题和国家科委课题的研究工作,其中“八·五”攻关课题获国家科技进步三等奖。近年在国内知名刊物上发表学术论文近30篇,并参加了1995版中国药典英文版的编译工作,任《中药现代研究与临床应用》一书编委。