

紫外分光光度法测定救必应益心片中 救必应总皂苷含量*

潘书洋¹, 谷雨², 孟令军³, 李超生^{2**}

(1. 吉林省食品药品检验所 长春 130000; 2. 吉林省中医药科学院 长春 130012;
3. 吉林大学生命科学学院 长春 133000)

摘要:目的:建立救必应益心片中救必应总皂苷含量的测定方法。方法:采用紫外分光光度法测定救必应益心片中救必应总皂苷含量。结果:救必应总皂苷在 2.16×10^{-5} – 6.47×10^{-5} $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内具有良好的线性关系,平均回收率为 98.81%,RSD 为 2.06%($n=6$)。结论:该方法准确可靠、重现性良好,可用于救必应益心片中救必应总皂苷含量的测定。

关键词:紫外分光光度法 救必应益心片 救必应总皂苷 含量测定

doi: 10.11842/wst.2014.08.031 中图分类号:R284.1 文献标识码:A

救必应益心片是冬青科植物铁冬青 *Ilex rotunda* Thunb. 干燥树皮的提取物经过加工所制成的片剂,具有活血化瘀、行气止痛、扩张冠脉血管、改善心肌缺血等功能^[1]。主要用于预防和治疗冠心病、心绞痛、心肌梗塞,症见淤血内阻引起的胸痹、眩晕、气短、心悸、胸闷或胸痛^[2,3]。救必应又名龙胆仔、冬青仔、碎骨木、过山风、白皮冬青、大叶冬青等,是冬青科冬青属植物铁冬青(*I. rotunda* Thunb.)的干燥树皮。据文献报道,救必应所含化学成分主要有三萜皂苷、黄酮苷、酚类和鞣质等。文东旭等^[4]从救必应中分离出铁冬青酸、长梗冬青苷、铁冬青酸异丙叉酮缩醇和 3-乙酰齐墩果酸等皂苷类成分,其中长梗冬青苷的含量比较高。为了更好地控制救必应益心片质量,本文以长梗冬青苷为对照品,测定了救必应益心片中总皂苷的含量,建立了紫外分光光度法测定救必应益心片中主要成分总皂苷含量的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

TU-1810 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),恒温水浴锅(上海医疗器械五厂),KQ118 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

甲醇(汉邦科技有限公司)、香草醛(天津市光复化工研究所)、高氯酸(北京化工厂)、冰醋酸(北京化工厂)均为分析纯。

1.3 试样

长梗冬青苷对照品(中国药品生物制品鉴定所,批号:111868-201001);救必应益心片由吉林省中医药科学院长白山资源所提供。

2 方法与结果

2.1 方法学考察

2.1.1 标准溶液的配制

精密称取长梗冬青苷对照品 13.47 mg,置于 5

收稿日期:2013-10-31

修回日期:2014-01-12

* 吉林省科技厅创新基金(SC0702118)救必应益心片,负责人:李超生。

** 通讯作者:李超生,研究员,硕士生导师,吉林省中医中药研究院院长,白山资源所副所长,主要研究方向:中药化学成分研究和新药研发。

mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备

随机抽取救必应益心片 10 片,研成细粉,精密称取 11.0 mg,置于 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 标准曲线的绘制

精密量取对照品溶液 0、80、120、160、200、240 μL ,分别置于 10 mL 量瓶中,低温挥干溶剂,分别加入 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,混匀,密塞,置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 15 min,取出后立即冷却,加入冰醋酸稀释至刻度,摇匀。以相应的试剂为空白对照,采用分光光度法[2010 年版《中国药典》(一部)附录 VA]^[5],在 562 nm 波长处测定吸光度。以吸光度(A)为纵坐标,浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线。得到回归方程 $A=101.057\ 906\ 5C+0.103\ 8$,相关系数 $r=0.999\ 6$ 。结果表明,在 2.16×10^{-5} ~ 6.47×10^{-5} $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内,样品浓度与吸光度呈良好的线性关系。

2.1.4 精密度试验

精密量取同一供试品溶液的续滤液 200 μL ,置于 10 mL 量瓶中,低温挥干溶剂,分别加入 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,混匀,密塞,置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 15 min,取出后立即用冷水冷却,加冰醋酸稀释至刻度,摇匀。在 562 nm 波长处测定吸光度,连续测定 6 次,吸光度平均值为 0.382,RSD 为 2.22%。

2.1.5 稳定性试验

取供试品溶液,按上述步骤,每间隔 10 min 测定一次,连续测定 6 次,吸光度平均值为 0.425,RSD 为 1.89%。吸光度在 1 h 内基本不变,表明本品在 1 h 内稳定性较好。

2.1.6 重复性试验

取本品(批号:040620)适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下方法测定吸光度,并计算含量。结果可知,含量平均值为 98.15%,RSD 为 1.67%。

2.1.7 加样回收率试验

取本品(批号:040620)共 10 片,研成细粉,精密称取 5.5 mg,5 份,置于 5 mL

量瓶中,分别精密加入长梗冬青苷对照品 4.0 mg,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 200 μL ,置于 10 mL 量瓶中,低温挥干溶剂,加入 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,混匀,密塞,置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 15 min,取出后立即用冷水冷却,加冰醋酸稀释至刻度,摇匀。以相应的试剂为空白对照,采用分光光度法[2010 年版《中国药典》(一部)附录 VA]^[5],在 562 nm 波长处测定其吸收度,计算回收率,结果见表 1。

2.2 样品的含量测定

2.2.1 样品测定

对 10 批样品中救必应总皂苷含量进行测定,分别重复 3 次,所得结果见表 2。救必应益心片中救必应总皂苷含量以长梗冬青苷($\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}$)计,均在 160.0 mg/片以上,故本品的含量限度暂定为含救必应总皂苷以长梗冬青苷($\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}$)计不得少于 160.0 mg/片。

表 1 加样回收率测定结果($n=5$)

样品	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	3.97	3.87	7.85	100.3		
2	4.07	4.04	8.05	98.51		
3	3.93	4.11	8.07	100.7	98.81	2.058
4	3.88	3.93	7.77	98.98		
5	4.00	3.82	7.65	95.95		

表 2 样品中救必应总皂苷含量测定结果($n=3$)

批号	含量(mg/片)	平均含量(mg/片)	RSD/%
040602	172.33		
040603	169.54		
040604	177.88		
040619	169.33		
040620	179.68	174.13	2.45
040621	175.34		
041226	168.45		
041227	179.55		
041228	172.65		
041229	176.55		

3 讨论

3.1 对照品的选择

在救必应中的皂苷类成分中,长梗冬青苷的含量较高,且《中国药典》规定,救必应药材中长梗冬青苷的含量不少于4.5%,故本实验中选用长梗冬青苷作为对照品测定救必应中总皂苷的含量。

3.2 实验方法选择

皂苷类、多糖类和黄酮类是救必应药材的主要活性成分,其中救必应总皂苷可与高氯酸发生显色反应^[6,7],在可见区产生吸收,最大吸收波长明显,反应相对稳定。

本文采用紫外分光光度法检测救必应益心片中总皂苷的含量,显色条件为0.2 mL 5%香草醛-冰醋酸溶液,0.8 mL 高氯酸,60℃加热15 min,检测波长为562 nm。其可行性分析结果证实,此方法的准确性和精密度高,稳定性和加样回收率均较好。

救必应益心片是由救必应单一药材的提取物加

工而成,目前有关单一中药材提取物制剂中总皂苷含量测定方法的报道较少。本文用高氯酸显色法对救必应益心片中救必应总皂苷进行含量测定,通过方法学考察,最终建立了一种简单、准确、灵敏且重复性好的救必应益心片中总皂苷的质控方法。

参考文献

- 1 苏碧茹.中成药中救必应的薄层色谱鉴别.中药材,2000,23(8):490.
- 2 何洋,黄敬聪,宋凤兰.正交试验法优选救必应中总黄酮的超声提取工艺.广东化工,2009,36(2):73-75.
- 3 杨安平,王宗伟.正交设计法筛选救必应总黄酮的精制工艺.中医药学刊,2006,24(6):1136-1137.
- 4 文东旭,陈仲良.救必应化学成分的研究(1).中草药,1991,22(6):246-248.
- 5 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部).北京:中国医药科技工业出版社,2010.
- 6 桂双英,周亚球.比色法测定人参中人参总皂苷的含量.安徽中医学院学报,2003,22(4):51-52.
- 7 唐军.比色法测定黄芪中黄芪总皂苷含量.安徽中医学院学报,2004,23(5):37-38.

Determination of Total Saponins in *Jiu-Bi-Ying Yi-Xin* Tablet with Ultraviolet Spectrophotometry

Pan Shuyang¹, Gu Yu², Meng Lingjun³, Li Chaosheng²

1. Jilin Institute For Food & Drug Control, Changchun 130000, China;
2. Jilin Academy of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130012, China;
3. College of Life Sciences, Jilin University, Changchun 133000, China)

Abstract: This study was aimed to establish the determination method of total saponins content in *Jiu-Bi-Ying Yi-Xin* (JBYYX) tablet. The content of total saponins in JBYYX tablet was determined by ultraviolet spectrophotometry. The results showed that in the range of 2.16×10^{-5} – 6.47×10^{-5} mg·mL⁻¹, the total saponins had good linear relationship. The average recycle rate was 98.81%. RSD was 2.06% (n=6). It was concluded that the method was accurate, reliable and repeatable, which was suitable for determining the content of total saponins in JBYYX tablet.

Keywords: Ultraviolet spectrophotometry, *Jiu-Bi-Ying Yi-Xin* tablet, total saponin, content determination

(责任编辑 彭晓敏 张志华,责任译审 汪 晶)