

引用:沈婷婷,陈清光,刘瑾,张建伟.参蝎止痛胶囊质量标准研究[J].中医导报,2025,31(4):77-82,88.

参蝎止痛胶囊质量标准研究*

沈婷婷,陈清光,刘瑾,张建伟

(上海中医药大学附属曙光医院,上海 201203)

[摘要] 目的:建立参蝎止痛胶囊的质量标准。方法:采用薄层色谱法对参蝎止痛胶囊中的三七、全蝎、炒土鳖虫进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定参蝎止痛胶囊中人参皂苷 R_{g1} 、三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{b1} 的含量。结果:薄层色谱试验结果显示供试品具有三七、全蝎、炒土鳖虫对照品及对照药材的特征斑点,且斑点清晰,阴性对照品无干扰。含量测定方法学试验中,被测组分的色谱峰分离度好,专属性强,方法学考察指标均符合要求。结论:本研究采用的薄层色谱法和高效液相色谱法操作简便、重复性好、结果可靠,可作为参蝎止痛胶囊质量标准的鉴别项和含量测定项。

[关键词] 参蝎止痛胶囊;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;含量测定

[中图分类号] R284.1;R286.0 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)04-0077-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.04.013

Research on Quality Standard of Shenxie Zhitong Capsules

(参蝎止痛胶囊)

SHEN Tingting, CHEN Qingguang, LIU Jin, ZHANG Jianwei

(Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Objective: To establish a quality standard of Shenxie Zhitong Capsules (参蝎止痛胶囊). Methods: Thin-Layer Chromatography (TLC) was used to identify Sanqi (Notoginseng Radix Et Rhizoma), Quanjie (Scorpio) and Tubiechong (Eupolyphaga Steleophaga). High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used to determine the contents of Ginsenoside R_{g1} , Notoginsenoside R_1 , and Ginsenoside R_{b1} . Results: The TLC chromatogram of test solution showed characteristic spots of Sanqi (Notoginseng Radix Et Rhizoma), Quanjie (Scorpio) and Tubiechong (Eupolyphaga Steleophaga). The spots were clear and the negative reference had no interference. Compounds being examined showed high separation and good specificity in HPLC chromatogram, methodological inspections met requirements of content determination. Conclusion: The methods of TLC and HPLC had advantages of process simplicity and good repeatability that can be used to establish quality standard of Shenxie Zhitong Capsules.

[Keywords] Shenxie Zhitong Capsules; quality standard; thin-layer chromatography; high performance liquid chromatography; content determination

参蝎止痛胶囊是由三七、全蝎、炒土鳖虫等药物组成的复方中药制剂,具有活血通络、止痛的作用。参蝎止痛胶囊为上海中医药大学附属曙光医院院内制剂,临床主要用于治疗颈臂痛麻、腰腿痛麻或其他退行性病变所致的关节痛,疗效显著。近年来研究发现,参蝎止痛胶囊治疗糖尿病周围神经病变有明显疗效^[1-2]。糖尿病周围神经病变在中医学中属于“痿证”“痹证”范畴。消渴病日久致气血阴阳不足,气虚无力推动血行,经脉失去气血津液的濡养,血行不畅,瘀阻脉络,

进而发展成痹证和脱疽^[2-4]。临床表现为肢体末端保护性感觉减退或消失,对外界异物或压力反应下降易受伤,从而形成溃疡,严重者甚至需要截肢。

参蝎止痛胶囊主要由活血化瘀药和息风通络药组成。“三七”在古代常称作“参三七”^[5],具有活血散瘀、消肿定痛的功效,为方中君药。药理研究表明三七具有扩血管、改善微循环、抗血小板聚集、镇痛抗炎及神经保护等作用^[5-6]。全蝎具有息风止痉、通络止痛、攻毒散结的功效,为方中臣药,与三七

*基金项目:上海市2022年度“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项项目(22S21900400)

通信作者:陈清光,男,副研究员,研究方向为糖尿病及并发症的临床与基础研究

配伍治疗瘀阻脉络所致痹痛^[7-8]。全蝎具有镇痛、抗凝血、溶栓及抗惊厥等药理作用^[9]。土鳖虫为方中佐药,具有破血逐瘀、续筋接骨的功效^[7],在方中助三七逐瘀通经。土鳖虫具有抗凝血、抗血栓、调节血脂、抗肿瘤及增强免疫等药理作用^[9]。参蝎止痛胶囊全方能改善糖尿病周围神经病变引起的疼痛症状。

该制剂原质量标准仅涉及性状、鉴别、水分及装量差异等常规检查项目,难以全面把控药品的质量,而薄层色谱技术和高效液相色谱分析是控制中药制剂质量的重要手段^[11]。因此本研究通过增加薄层鉴别项和含量测定项来完善参蝎止痛胶囊的质量标准,以有效地控制药品质量。

1 材 料

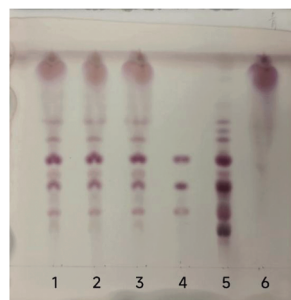
1.1 药物与试剂 参蝎止痛胶囊(上海中医药大学附属曙光医院制剂室委托上海雷允上药业有限公司生产,批号:230201,230202,230501,230502,230701,230702);参蝎止痛胶囊阴性样品(上海中医药大学附属曙光医院制剂室);人参皂苷R_{g1}对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110703-202235,含量98.5%);人参皂苷R_{b1}对照品[中国食品药品检定研究院,批号:110704-202230(含量95.1%),批号:110704-202231(含量93.8%)];三七皂苷R₁对照品(上海同田生物技术有限公司,批号:22060125,含量98.0%);三七对照药材(中国药品生物制品检定所,批号:120941-200807);全蝎对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:121044-201104);土鳖虫对照药材(中国食品药品检定研究院,批号121533-202105);水为制剂室自制纯化水;色谱纯甲醇(德国默克股份两合公司,批号:11223230232);色谱纯乙腈(赛默飞世尔科技有限公司,批号:F22M3A201);氯仿(上海凌峰化学试剂有限公司,批号:20210222);分析纯乙酸乙酯(上海凌峰化学试剂有限公司,批号:20220701)。

1.2 主要仪器 SK7200B型台式超声仪(上海科导超声仪器公司);沃特世高效液相色谱仪(携带2489检测器,沃特世科技有限公司);AUY220型电子分析天平(日本岛津公司);SQP60 g型十万分之一电子分析天平(赛多利斯科学仪器公司);DHG-9140A型电热鼓风干燥箱(上海一恒科技公司);XMTD-204型电热四孔水浴锅(上海跃进医疗器械公司);ZF-90型暗箱式紫外透射仪(上海顾村电光仪器厂);硅胶G薄层板(10 cm×10 cm,青岛海洋化工厂及湖南比克曼控股有限责任公司);定量毛细管(4 μL,美国Drummond公司);中速型定性滤纸(杭州沃华滤纸公司);快速型定量滤纸(抚顺市民政滤纸厂)。计量器具及衡器均经计量检测机构校验合格。

2 薄层色谱法

2.1 三七薄层色谱鉴别 称取参蝎止痛胶囊3批样品内容物各2 g,加水饱和的正丁醇20 mL,低频率超声提取(功率350 W,频率35 kHz)30 min,用玻璃漏斗加定性滤纸过滤,滤液置沸腾水浴锅上蒸干,残渣用1 mL甲醇溶解,得到供试品溶液。取不含三七药材的阴性样品,同供试品溶液配制方法制得阴性对照品溶液。称取三七对照药材0.5 g,同上述配制方法制成三七对照药材溶液。再取人参皂苷R_{g1}、三七皂苷R₁及人参皂苷R_{b1}对照品,用甲醇稀释成每1 mL各含0.5 mg的混合溶液,得到对照品溶液。按照2020年版《中华人民共和国药典》四部通则0502薄层色谱法操作,分别用定量毛细管吸取上述3种

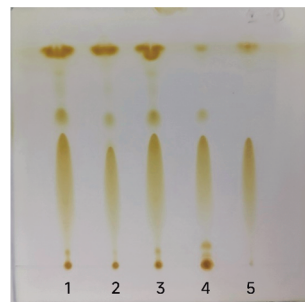
溶液各4 μL,点样于同一块硅胶G薄层板上,用氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(体积比为15:40:22:10)10℃以下静置分层的下层溶液作为展开剂,展开,取出,晾干。薄层板浸入配制好的10%硫酸乙醇溶液中(浸入可避免薄层板显色不均),顷刻取出,于105℃鼓风烘箱中加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置处,显相同的紫红色的斑点,阴性对照品在相应的位置处无斑点干扰。(见图1)



注:1.供试品(230501);2.供试品(230502);3.供试品(230701);4.混合对照品;5.三七对照药材;6.阴性对照品。

图1 三七的薄层鉴别图

2.2 全蝎薄层色谱鉴别 称取参蝎止痛胶囊3批样品内容物各2 g,加石油醚(60~90℃)20 mL,低频率超声处理(功率350 W,频率35 kHz)20 min,用0.45 μm微孔滤膜过滤,滤液作为供试品溶液。取不含全蝎药材的阴性样品,同供试品溶液的配制方法制得阴性对照品溶液。取全蝎对照药材0.5 g,同上述配制方法制得对照药材溶液。按照2020年版《中华人民共和国药典》四部通则0502薄层色谱法操作,分别用定量毛细管吸取上述3种溶液各8 μL,点样于同一块硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(体积比为15:4)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘缸内用碘蒸气熏至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置处显相同颜色的斑点,阴性对照品在相应的位置处无斑点干扰。(见图2)

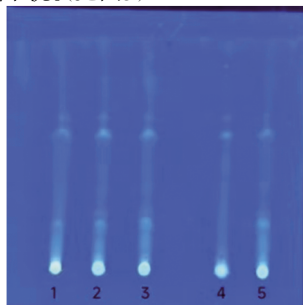


注:1.供试品(230501);2.供试品(230502);3.供试品(230701);4.全蝎对照药材;5.阴性对照品。

图2 全蝎的薄层鉴别图

2.3 炒土鳖虫薄层色谱鉴别 称取参蝎止痛胶囊3批样品内容物各2 g,加甲醇20 mL,低频率超声处理(功率350 W,频率35 kHz)30 min,用玻璃漏斗加定性滤纸过滤,滤液置加热热水浴锅上蒸干,残渣用1 mL甲醇溶解,得到供试品溶液。取不含土鳖虫药材的阴性样品,同供试品溶液的配制方法制得阴性对照品溶液。另称取土鳖虫对照药材1 g,同上述配制方法制得对照药材溶液。按照2020年版《中华人民共和国药典》四部通则0502薄层色谱法操作,分别用定量毛细管吸取供试品溶液4 μL,土鳖虫对照药材溶液8 μL,阴性对照品溶液4 μL,

点样于同一块硅胶G薄层板上,以甲苯-二氯甲烷-丙酮(体积比为10:13:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置暗箱式紫外透射仪(使用365 nm紫外光灯)中检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置处显相同的荧光斑点,阴性对照品在相应的位置处无斑点干扰。(见图3)



注:1.供试品(230501);2.供试品(230502);3.供试品(230701);4.土鳖虫对照药材;5.阴性对照品。

图3 炒土鳖虫的薄层鉴别图

3 含量测定方法学考察

3.1 色谱条件 色谱柱:Fast Core Super C₁₈(250.0×4.6 mm, 5.0 μL);流动相A为乙腈,流动相B为水,按照表1中的梯度洗脱程序进行洗脱;检测器:沃特世2489检测器;检测波长:203 nm;柱温:25℃;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间	流动相A	流动相B
0~12 min	19%	81%
12~60 min	19%→36%	81%→64%

3.2 色谱柱选择 取混合对照品溶液用不同品牌色谱柱(填料均为十八烷基硅烷键合硅胶),按“3.1”项色谱条件进样,使用Fast Core Super-C₁₈色谱柱被测组分出峰时间适宜,其余色谱柱出峰时间稍慢。被测组分出峰时间见表2。取供试品溶液用不同品牌色谱柱,按“3.1”项色谱条件进样,使用Fast Core Super-C₁₈色谱柱,人参皂苷R_{g1}色谱峰与相邻色谱峰的分离度大于2.0,分离度较好。基于以上结果,本研究选择Fast Core Super-C₁₈色谱柱。

表2 色谱柱考察结果

色谱柱	被测组分出峰时间/min		
	三七皂苷R ₁	人参皂苷R _{g1}	人参皂苷R _{b1}
Dikma Diamonsil-C ₁₈ 柱	28.240	31.579	56.240
Kromasil-C ₁₈ 柱	24.269	27.973	52.592
Agilent ZORBAX SB-C ₁₈ 柱	22.362	26.215	50.572
Fast Core Super-C ₁₈ 柱	17.955	22.304	48.096

3.3 溶液的配制

3.3.1 对照品溶液的配制 取人参皂苷R_{g1}对照品、三七皂苷R₁对照品、人参皂苷R_{b1}对照品适量,用十万分之一电子天平精密称定,加甲醇配制每1 mL含人参皂苷R_{g1} 0.3 mg、三七皂苷R₁ 0.1 mg、人参皂苷R_{b1} 0.2 mg的混合对照品溶液。

3.3.2 供试品溶液的配制 取参蝎止痛胶囊内容物2.0 g,精密称定,置100 mL容量瓶中,加70%乙醇80 mL,低频率超声处理(350 W, 35 kHz)30 min,放冷,再加70%乙醇定容至刻度,摇匀,用玻璃漏斗加定量滤纸滤过,取续滤液,得到供试品溶

液。进样前,供试品溶液用0.22 μm微孔滤膜过滤。

3.3.3 阴性对照溶液的配制 按照参蝎止痛胶囊的处方和工艺,制备不含三七药材的阴性样品,取阴性对照品内容物2.0 g,同上述供试品溶液的配制方法制得阴性对照溶液。

3.4 系统适用性试验及专属性试验 取混合对照品溶液、供试品溶液,按“3.1”项色谱条件进行系统适用性试验,理论塔板数要求三七皂苷R₁峰应不低于8 000、人参皂苷R_{g1}峰应不低于10 000、人参皂苷R_{b1}峰应不低于20 000,人参皂苷R_{g1}主峰与相邻的人参皂苷R_e色谱峰的分离度应不低于2.0。结果表明,被测组分色谱峰的理论塔板数、分离度均符合要求。(见表3)

表3 系统适用性试验结果

被测组分	对照品溶液			供试品溶液		
	保留时间/min	理论塔板数	分离度	保留时间/min	理论塔板数	分离度
三七皂苷R ₁	17.112	25 850	5.35	17.315	25 826	15.1
人参皂苷R _{g1}	21.585	68 100	3.38	21.785	68 086	2.35
人参皂苷R _{b1}	47.452	453 474	85.7	47.723	500 970	4.61

取“3.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按照“3.1”项色谱条件分别进样检测,记录色谱图。供试品溶液中被测组分的保留时间与对照品、三七皂苷R₁对照品、人参皂苷R_{b1}对照品主峰的保留时间一致。阴性对照溶液在相同的保留时间处未见色谱峰,对被测组分不产生干扰。(见图4~9)

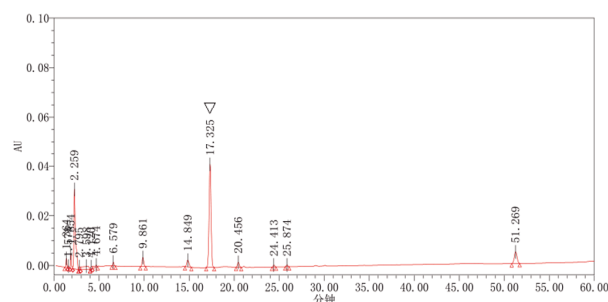


图4 三七皂苷 R₁ 对照品溶液高效液相色谱图

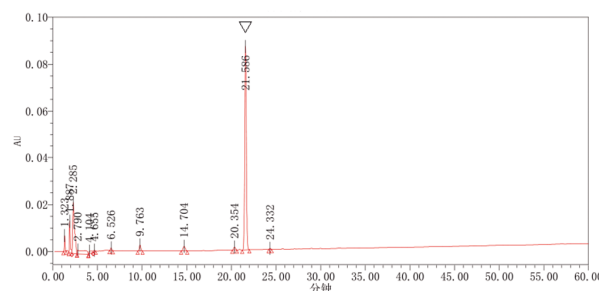


图5 人参皂苷 R_{g1} 对照品溶液高效液相色谱图

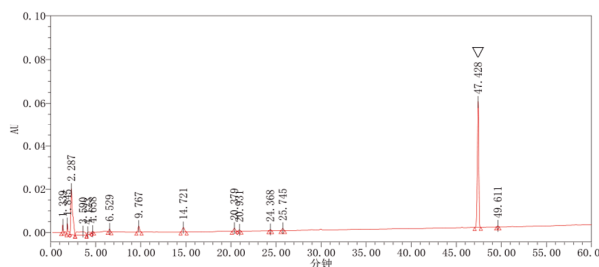


图6 人参皂苷 R_{b1} 对照品溶液高效液相色谱图

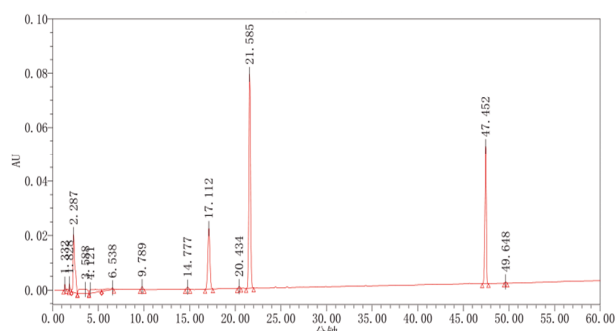


图 7 混合对照品溶液高效液相色谱图

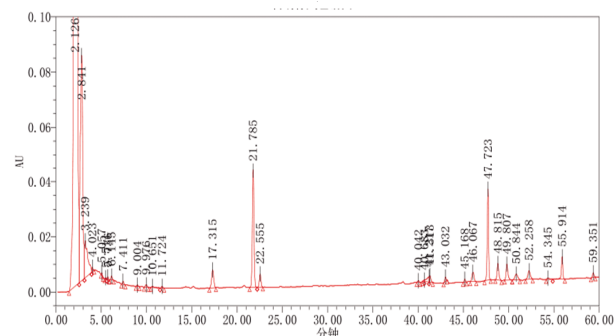


图 8 供试品溶液高效液相色谱图

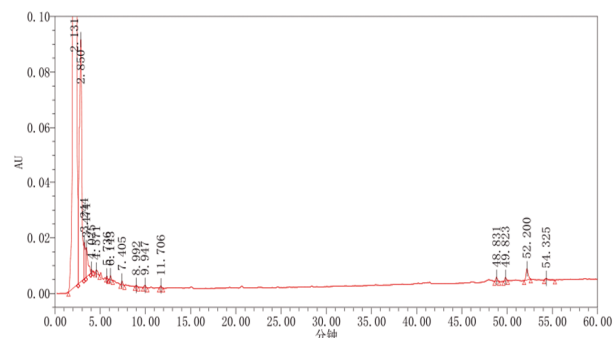


图 9 阴性对照溶液高效液相色谱图

3.5 线性关系考察 取三七皂苷R₁对照品、人参皂苷R_{g₁}对照品、人参皂苷R_{b₁}对照品,精密称定,加甲醇配制成质量浓度分别为0.236 4 mg/mL、0.531 1 mg/mL、0.398 3 mg/mL的混合对照品储备液,分别精密量取上述混合对照品储备液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释定容到刻度,摇匀,制成质量浓度递增的6个混合对照品溶液。其中三七皂苷R₁对照品溶液线性质量浓度分别为0.011 82、0.023 64、0.047 28、0.070 91、0.094 55、0.118 20 mg/mL,人参皂苷R_{g₁}对照品溶液线性质量浓度分别为0.026 56、0.053 11、0.106 20、0.159 30、0.212 40、0.265 60 mg/mL,人参皂苷R_{b₁}对照品溶液线性质量浓度分别为0.019 91、0.039 83、0.079 66、0.119 50、0.159 30、0.199 10 mg/mL,按照“3.1”项下色谱条件将6个浓度的混合对照品溶液依次进样10 μL,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(Y),对照品溶液浓度(单位:mg/mL)为横坐标(X),得到线性回归方程及相关系数如下:

三七皂苷 $R_1: Y = 2\,864\,643.01X - 1\,819.53, R^2 = 0.999\,9$; 人參皂苷 $R_{g1}: Y = 3\,524\,190.56X - 1\,610.69, R^2 = 0.999\,9$; 人參皂苷 $R_{b1}: Y = 2\,540\,757.37X - 1\,209.79, R^2 = 1.000\,0$ 。

三七皂苷R₁进样质量浓度为0.011 82~0.118 2 mg/mL,人

参皂苷R_{g1}进样质量浓度为0.026 56~0.265 6 mg/mL, 人参皂苷R_{b1}进样质量浓度为0.019 91~0.199 1 mg/mL, 线性关系良好。(见表4)

表 4 线性关系考察结果

序号	三七皂苷R ₁		人参皂苷R _g ₁		人参皂苷R _b ₁	
	进样质量浓度/(mg/mL)	峰面积	进样质量浓度/(mg/mL)	峰面积	进样质量浓度/(mg/mL)	峰面积
1	0.011 82	30 852	0.026 56	88 857	0.019 91	48 225
2	0.023 64	66 322	0.053 11	186 449	0.039 83	100 479
3	0.047 28	134 418	0.106 20	374 715	0.079 66	202 138
4	0.070 91	201 624	0.159 30	560 819	0.119 50	302 177
5	0.094 55	269 680	0.212 40	749 815	0.159 30	404 292
6	0.118 20	335 792	0.265 60	930 865	0.199 10	503 916

3.6 精密度试验 按“3.3.2”项下方法配制供试品溶液,按照“3.1”项下色谱条件,接连进样6次,记录三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_g 、人参皂苷 R_b 的保留时间和峰面积,计算RSD值。结果三七皂苷 R_1 保留时间RSD值为0.30%,峰面积RSD值为0.33%;人参皂苷 R_g 保留时间RSD值为0.17%,峰面积RSD值为0.28%;人参皂苷 R_b 保留时间RSD值为0.07%,峰面积RSD值为0.57%。RSD值均小于2.0%,表明本方法的进样精密度良好。(见表5)

表 5 精密度试验结果

序号	三七皂苷R ₁		人参皂苷R _{g1}		人参皂苷R _{b1}	
	峰保留时间	峰面积	峰保留时间	峰面积	峰保留时间	峰面积
1	17.628	108 851	21.995	561 190	47.704	351 218
2	17.561	108 484	21.972	557 382	47.730	353 450
3	17.574	108 441	21.975	557 883	47.721	355 167
4	17.550	107 984	21.955	556 872	47.702	352 495
5	17.536	108 779	21.937	557 302	47.672	350 651
6	17.469	108 040	21.889	558 376	47.635	349 715
RSD/%	0.30	0.33	0.17	0.28	0.07	0.57

3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,在室温下放置,分别在0、2、4、8、12、16、24 h^[14-15]按照“3.1”项下色谱条件进样,记录人参皂苷R_{g1}、三七皂苷R₁、人参皂苷R_{b1}的峰面积,并计算RSD值。结果人参皂苷R_{g1}峰面积RSD值为0.40%,三七皂苷R₁峰面积RSD值为2.86%,人参皂苷R_{b1}峰面积RSD值为0.42%。RSD值均小于3.0%,表明按“3.3.2”项下方法配制的供试品溶液在24 h之内基本稳定。(见表6)

表 6 稳定性试验结果

放置时间/h	三七皂苷R ₁		人参皂苷R _{g₁}		人参皂苷R _{b₁}	
	峰面积	RSD/%	峰面积	RSD/%	峰面积	RSD/%
0	103 220	2.86	529 544	0.40	325 867	0.42
2	106 270		532 220		328 545	
4	106 104		530 087		326 111	
8	106 845		534 416		327 089	
12	101 153		531 940		325 129	
16	101 976		534 870		326 231	
24	99 116		530 178		324 209	

3.8 重复性试验 取同一批号的参蝎止痛胶囊(批号230502),按照“3.3.2”项下供试品溶液的配制方法配制6份,按照“3.1”项下色谱条件分别进样,测定三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_g 、人参

皂苷Rb₁的含量。6份供试品溶液中三七皂苷R₁的平均含量为1.842 4 mg/g, RSD值为1.53%;人参皂苷R_{g₁}的平均含量为7.401 7 mg/g, RSD值为0.32%;人参皂苷Rb₁的平均含量为6.355 6 mg/g, RSD值为0.82%。RSD值均小于2.0%,表明该方法的重复性良好。(见表7)

表 7 重复性试验结果

质量/g	三七皂苷R ₁ /(mg/g)		人参皂苷R _{g₁} /(mg/g)		人参皂苷Rb ₁ /(mg/g)	
	含量	平均含量	含量	平均含量	含量	平均含量
2.006 3	1.795 0	1.842 4	7.419 8	7.401 7	6.437 4	6.355 6
2.003 5	1.821 4		7.422 9		6.402 0	
2.002 1	1.853 9		7.400 2		6.325 1	
2.002 5	1.868 3		7.421 2		6.344 8	
2.004 2	1.857 1		7.372 6		6.317 8	
2.002 2	1.858 7		7.373 2		6.306 7	

3.9 加样回收率试验 取已知含量的参蝎止痛胶囊(批号230502)6份,精密称定,分别精密加入三七皂苷R₁对照品、人参皂苷R_{g₁}对照品、人参皂苷Rb₁对照品适量(样品含量的100%^[12-13]),按照“3.3.2”项下方法制备样品溶液后,按照“3.1”项下色谱条件进样测定,计算三七皂苷R₁、人参皂苷R_{g₁}、人参皂苷Rb₁的加样回收率,平均加样回收率应在90%~108%范围内。结果三七皂苷R₁的平均加样回收率为101.06%, RSD值为1.92%;人参皂苷R_{g₁}的平均加样回收率为100.64%, RSD值为2.01%;人参皂苷Rb₁的平均加样回收率为101.99%, RSD值为1.39%。符合试验要求。(见表8)

3.10 样品含量测定 取6批样品,照“3.3.2”项下方法配制供试品溶液,按照“3.1”项下色谱条件进样测定,计算每粒胶囊含人参皂苷R_{g₁}、三七皂苷R₁、人参皂苷Rb₁的总量。(见表9)

表 9 6 批样品中人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rb₁ 含量测定结果

批号	三七皂苷R ₁ /(mg/粒)	人参皂苷R _{g₁} /(mg/粒)	人参皂苷Rb ₁ /(mg/粒)	3种皂苷总量/(mg/粒)
230201	0.867 4	3.089 7	2.712 4	6.669 5
230202	0.832 5	2.972 5	2.624 8	6.429 8
230501	0.711 9	2.814 5	2.380 3	5.906 7
230502	0.737 0	2.960 7	2.542 2	6.239 9
230701	0.733 8	2.904 3	2.458 6	6.096 7
230702	0.739 2	2.917 1	2.467 0	6.123 3

3.11 样品含量限度的确定 3个批号(230501、230502、230701)参蝎止痛胶囊中人参皂苷R_{g₁}、三七皂苷R₁、人参皂苷Rb₁总量的收得率分别是95.4%、98.1%、97.8%,收得率均较高,与该制剂的生产工艺有关。2020年版《中华人民共和国药典》药材和饮片检定通则规定^[16],饮片水分应不得过13.0%。3批参蝎止痛胶囊使用的三七药材水分经测定为9.4%,符合《中华人民共和国药典》规定。根据2020年版《中华人民共和国药典》一部三七项规定^[7],三七含量以干燥品计算,人参皂苷R_{g₁}、三七皂苷R₁及人参皂苷Rb₁总量的质量分数不得低于5.0%。参考《中华人民共和国药典》要求,结合参蝎止痛胶囊中三七药材的处方量,如按3种皂苷总量收得率为90%来计算^[17-19],则每粒胶囊中含三七皂苷R₁、人参皂苷R_{g₁}、人参皂苷Rb₁的总量最低限度为3.915 0 mg。参蝎止痛胶囊各批次质量较为稳定,故拟定本品中三七皂苷R₁、人参皂苷R_{g₁}、人参皂苷Rb₁的含量限度为:每粒胶囊含三七以人参皂苷R_{g₁}、三七皂苷R₁、人参皂苷Rb₁的总量计,不得少于4.500 0 mg。本试验测试6批样品的含量均符合要求。

表 8 三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 Rb₁ 加样回收试验结果

被测成分	取样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
三七皂苷R ₁	1.003 5	1.848 8	1.911 0	3.844 8	104.44	101.06	1.92
	1.003 1	1.848 1	1.940 4	3.826 2	101.94		
	1.002 5	1.847 0	1.838 4	3.677 6	99.58		
	1.001 8	1.845 7	1.920 8	3.764 4	99.89		
	0.999 8	1.842 0	2.095 2	3.922 8	99.31		
	1.002 0	1.846 1	1.849 8	3.717 5	101.17		
人参皂苷R _{g₁}	1.003 5	7.427 6	7.217 1	14.40 32	96.65	100.64	2.01
	1.003 1	7.424 6	7.594 4	15.074 1	100.73		
	1.002 5	7.420 2	7.801 2	15.328 2	101.37		
	1.001 8	7.415 0	7.761 8	15.262 6	101.11		
	0.999 8	7.400 2	7.612 2	15.183 3	102.25		
	1.002 0	7.416 5	7.756 3	15.308 2	101.75		
人参皂苷Rb ₁	1.003 5	6.377 8	6.909 5	13.469 2	102.63	101.99	1.39
	1.003 1	6.375 3	6.628 5	13.277 6	104.13		
	1.002 5	6.371 5	7.160 6	13.572 4	100.56		
	1.001 8	6.367 0	6.444 1	12.955 4	102.24		
	0.999 8	6.354 3	6.416 0	12.909 2	102.16		
	1.002 0	6.368 3	6.647 3	13.031 8	100.24		

4 讨 论

4.1 三七鉴别 三七总皂苷是三七的主要药效成分,包括人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rg₁、三七皂苷R₁、人参皂苷Rd及人参皂苷Re等成分。其中三七皂苷R₁是三七的特征性成分^[13,20],与人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁以特定的比例组合,用于评价三七药材的质量^[21]。在对三七进行薄层鉴别时,针对三七中的三萜皂苷类成分,水饱和正丁醇是适宜的提取溶剂。本试验采用超声提取法提取皂苷类成分,较《中华人民共和国药典》分次萃取法更简便。

4.2 全蝎鉴别 全蝎含蝎毒、氨基酸、棕榈酸、油酸等成分^[9]。在对全蝎药味进行薄层鉴别时,本研究尝试以甲醇为提取溶剂制备供试品溶液,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(体积比为9:2)为展开剂,结果斑点的分离效果不太理想。以2%香草醛硫酸溶液为显色剂时,斑点易扩散,显色效果不佳。本研究改进方法,提取溶剂改为石油醚(60~90℃)^[22],展开剂调整体积比[石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(15:4)],显色剂为碘蒸气熏蒸。结果斑点能较好地分离,显色也非常清晰。

4.3 炒土鳖虫鉴别 土鳖虫含氨基酸、生物碱、核苷类等化学成分^[23-24]。在对炒土鳖虫药味进行薄层鉴别时,本研究先选用甲苯-二氯甲烷-丙酮(体积比为5.0:5.0:0.5)为展开剂,可能因土鳖虫炒制后成分有所改变^[25],斑点有些拖尾,影响分离效果,调整展开剂配比[甲苯-二氯甲烷-丙酮(10:13:1)]后,展开效果较为满意。

本次试验最终确定的鉴别方法能鉴别出三七、全蝎、炒土鳖虫。本研究将供试品溶液、对照品溶液、阴性对照品溶液贮存在不同的温度下[室温(20℃)和低温(4℃)],24 h后测定,或使用不同厂家生产的硅胶G板(青岛海洋、比克曼)进行试验。各试验均能较好地重现试验结果,特征斑点清晰,Rf值适中。阴性对照品色谱在相应的位置处未见有斑点干扰,专属性良好。

4.4 色谱条件 含量测定方法中,三七中的活性成分人参皂苷Rg₁、三七皂苷R₁、人参皂苷Rb₁为含量指标成分^[14,26]。三者化学结构相近,均为达玛烷型四环三萜皂苷^[21,27],具有相似的理化性质和色谱响应。经光谱扫描,三者在203 nm处吸收较强,故本研究选择203 nm作为检测波长。三七中的皂苷类成分相似,使用乙腈-水梯度洗脱能达到较好的分离效果^[28]。本试验前期采用流动相梯度(0~20 min,20%乙腈;20~45 min,20%→45%乙腈;45~55 min,45%→54%乙腈)进行洗脱,出现色谱峰峰裂。以梯度(0~21 min,20%乙腈;21~30 min,20%→25%乙腈;30~60 min,25%→36%乙腈;60~70 min,36%→20%乙腈)进行洗脱,出现基线飘移的现象。另柱温设置为30℃进行洗脱时,色谱峰的保留时间缩短,出现主峰与相邻的色谱峰合并现象。

由于人参皂苷Rg₁色谱峰与人参皂苷Rb₁色谱峰相邻^[29-30],两者的分离度一直以来是液相色谱中的考察点。FastCore色谱柱能将较好地将两者分离。为更好地反映色谱系统中主峰的分离情况,本试验对色谱柱的柱效要求高于《中华人民共和国药典》规定,即三七皂苷R₁峰的理论塔板数不能低于8 000,同时人参皂苷Rg₁峰的理论塔板数不能低于10 000,人参皂苷Rb₁峰应不低于20 000,人参皂苷Rg₁与人参皂苷Re的分离度

不能低于2.0。

本试验经过筛选优化,最终确定色谱条件,并设定平衡色谱柱的时间为15 min,系统适应性试验结果为基线平稳,出峰时间适宜,且各组分的分离情况良好,尤其是人参皂苷Rb₁与人参皂苷Rg₁分离度较好。

4.5 供试品溶液制备 本试验在配制供试品溶液时分别采用超声和回流提取法,结果两种方法提取出的皂苷成分含量差异不明显。因超声提取操作更简便省时,本研究选择超声提取法^[31]。本试验根据被测成分的含量考察不同溶剂的提取效率,在相同的时间内使用50%乙醇和70%乙醇提取出被测成分的含量接近,且大于甲醇和正丁醇。使用70%乙醇提取杂质峰少,对被测组分的干扰少,且经济、无害,故本试验选择70%乙醇作为提取溶剂。

所建立的含量测定方法经过方法学考察试验,结果可靠,准确度高。本研究拟定了参蝎止痛胶囊中3种皂苷总量的限度,今后还应积累更多批次的试验数据,旨在为完善参蝎止痛胶囊的质量标准提供依据。

参考文献

- [1] 金燊懿,陈清光,姚政,等.参蝎止痛胶囊治疗糖尿病周围神经病变脉络瘀阻证临床观察[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(8):81-87.
- [2] 金燊懿,陆灏,姚政.参蝎止痛胶囊治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效观察[J].西部中医药,2021,34(8):6-10.
- [3] 陈林秀,肖路平.芪黄颗粒辅治2型糖尿病周围神经病变临床观察[J].实用中医药杂志,2023,39(12):2397-2399.
- [4] 蔡祎晴,王晨璐,刘雪寒,等.四妙勇安汤在消渴病脱疽中的应用探析[J].中华中医药杂志,2024,39(2):618-621.
- [5] 刘永妹,李新,韩梁,等.“伤科要药”三七在骨伤与创伤中的研究进展[J].中草药,2024,55(5):1738-1750.
- [6] 张孟,宋莉.藏药三七中三萜皂苷的含量测定研究[J].中国民族医药杂志,2022,28(8):34-36,42.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [8] 杨泽恒,林敏,鲁玉辉.《临证指南医案》虫药通络法探析[J].中医药通报,2024,23(1):36-40.
- [9] 宋莹,王振,乌凯迪,等.毒药全蝎药理作用研究[J].辽宁中医药大学学报,2020,22(12):216-220.
- [10] 王立娜,王颖,朱明珠,等.土鳖虫的活性成分及药理研究进展[J].化工时刊,2017,31(6):34-36.
- [11] 徐小龙,伏东宁,常志惠,等.中药医院制剂质量标准提高的研究进展[J].临床合理用药,2024,17(23):173-176.
- [12] 章靓,徐心怡,潘艳琳,等.康达心口服液质量标准提高研究[J].亚太传统医药,2023,19(8):35-40.
- [13] 刘静玉,金武燮,谷丽华,等.冠心生脉丸质量标准提升[J].中成药,2024,46(3):724-729.
- [14] 刘厚权,林飞英,肖忠训,等.HPLC法测定血平片中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的含量研究[J].特产研究,2022,44(5):121-123,135.
- [15] 石春兰,刘学良,俞雅琼,等.扁蕾颗粒(下转第88页)

- 中7个成分的含量[J].中国药房,2022,33(6):680-684.
- [14] 刘靖,靳婉君,郭朝晖,等.一测多评法同时测定通宣理肺丸中9种成分的含量[J/OL].中成药,1-6(2023-11-27) <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.r.20231123.1535.004.html>.
- [15] 何天雨,梅茜,王晓丽,等.基于一测多评法含量测定及薄层鉴别的经典名方竹茹汤颗粒剂的质量评价研究[J].中草药,2023,54(14):4511-4519.
- [16] 喻欢欢,钟猛,丁锐,等.一测多评法测定玄参中7种有效成分的含量[J].中国中药杂志,2017,42(14):2719-2724.
- [17] 何清华,徐伟,杨云芝,等.多指标正交试验优化损伤中期口服液的提取工艺[J].中医导报,2024,30(3):56-60.
- [18] 唐甜甜,刘文,王群,等.基于糖尿病肾病大鼠模型黄芪六一汤药效组分的PK-PD结合模型的建立[J].药物评价研究,2024,47(8):1804-1819.
- [19] 杨笑云.人参、三七皂苷类成分及药理活性差异探究(一)[D].北京:北京中医药大学,2023.
- [20] 王坤,何本祥.川续断皂苷VI修复兔肌腱病[J].中国组织工程研究,2022,26(2):211-217.
- [21] 楼红侃,许旻鸣,方剑利,等.基于PI3K/Akt信号通路探讨松脂醇二葡萄糖苷对兔膝关节关节炎软骨细胞保护机制的研究[J].中华中医药学刊,2023,41(1):190-193,286-289.
- [22] 肖文艳.补骨脂微生物发酵产物抗CKD血管钙化的活性研究[D].成都:成都大学,2024.
- [23] 张云开.骨质疏松方治疗肾虚血瘀型绝经后骨质疏松症的临床观察[D].南昌:江西中医药大学,2023.
- [24] 方宝霞,李湘,滚代芬,等.一测多评法应用于化学药及中药的化学药成分质量控制研究进展[J].药物评价研究,2023,46(6):1382-1388.
- [25] 邱琼华,覃子龙,张蓓,等.一测多评法同时测定清热颗粒中5种成分的含量[J].中医导报,2022,28(7):67-71.
- [26] 张初瑜,陈素红,吴素香.一测多评法测定复方人参保片中的8种苷类成分[J].中国现代应用药学,2018,35(5):708-714.
- [27] 刘小伟,宝鲁尔,荣君,等.一测多评法同时测定蒙药吉如合-6中6种成分含量[J].中国现代应用药学,2022,39(19):2457-2464.
- [28] 王昱涵,王志萍,谢谭芳,等.一测多评法同时测定金母颗粒中6种成分[J].中药新药与临床药理,2023,34(3):414-419.
- [29] 牛艳,栾永福,许丽丽,等.双标线性校正法用于槐角炭的指纹图谱研究[J].药物分析杂志,2022,42(9):1652-1658.
- [30] 赵一擎,张红伟,王晓燕,等.双标线性校正法用于一清颗粒的多指标成分定性分析[J].中国药学杂志,2022,57(12):1021-1026.
- [31] 遆安航,李思思,陈瑾,等.一测多评法同时测定连翘归尾颗粒中3种成分[J].中成药,2022,44(9):2779-2783.
- [32] 陈家仪,栗建明,顾利红,等.一测多评法同时测定祛痰止咳颗粒中7种成分的含量[J].药学学报,2022,57(11):3405-3410.

(收稿日期:2024-09-14 编辑:蒋凯彪)

(上接第82页)质量标准提升研究[J].中国药业,2023,32(22):85-88.

- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:30.
- [17] 杨宝莲,吴建华,廖洲青.新甲伤药胶囊中三七的质量控制研究[J].江西医药,2022,57(10):1397-1401.
- [18] 袁铭铭,周国平,熊晓丽,等.高效液相色谱法测定虎力散片中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1和Rb1的含量[J].药品评价,2021,18(21):1289-1292.
- [19] 赵慧雯,雷丸,潘雯,等.青柏散质量标准研究[J].中医导报,2024,30(1):55-58,65.
- [20] 牟娟,李健田,毛子春.HPLC法一测多评法对补气养血合剂中人参、三七的含量测定研究[J].云南中医中药杂志,2021,42(5):73-77.
- [21] 石礼平,张国壮,刘丛盛,等.三七化学成分和药理作用研究概况及质量标志物的预测[J].中国中药杂志,2023,48(8):2059-2067.
- [22] 刘凯娜,王晓云,潘赢,等.全蝎质量评价及标准提高研究[J].中国现代中药,2017,19(2):209-213.
- [23] 王少平,赵一慕,李盼盼,等.基于网络药理学的土鳖虫破血逐瘀作用机制研究[J].中国现代中药,2021,23(3):457-463,469.
- [24] 王潇,文敏,郑沛,等.土鳖虫化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J].环球中医药,2024,17(5):933-940.
- [25] 陈伟韬,刘梦云,李养学,等.金边土鳖薄层色谱鉴别方法的改进[J].时珍国医国药,2020,31(4):872-874.
- [26] 郭玺,刘盼茹,唐乙朝,等.三七皂苷成分及临床药理作用研究进展[J].南京中医药大学学报,2024,40(9):985-992.
- [27] 叶辉,李华宇,谷应丽,等.三七总皂苷的提取及含量测定[J].南开大学学报(自然科学版),2021,54(3):54-59.
- [28] 蒙蒙,王岩.一测多评法测定不同产地和生长年限三七中5个成分的含量[J].中药材,2023,46(4):959-964.
- [29] 印晓红,闵会,周祥,等.三七药酒中人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1的含量测定[J].中国药品标准,2021,22(6):549-554.
- [30] 蒋蓓,周旭,谭茂兰,等.血塞通咀嚼片质量标准研究[J].中国民族民间医药,2022,31(23):32-35.
- [31] 陈肇娜,吴丽荣,李丝红.超声提取法测定三七片中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1和人参皂苷Rb1的含量[J].海峡药学,2022,34(9):54-56.

(收稿日期:2024-10-08 编辑:蒋凯彪)