

· 药剂与工艺 ·

丙肝康颗粒剂质量标准的研究

彭 勃,袁 珂,胡润淮,黄朝阳,孙 伟,张晓明*

(河南中医学院,河南 郑州 450008)

摘要:目的 研究丙肝康颗粒剂的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中的女贞子、黄芪、虎杖、板蓝根和五味子进行定性鉴别,并用薄层扫描法对制剂中的主药西洋参进行含量测定。结果 线性范围 2.08~10.40 μg ,平均回收率为 97.64%, RSD 为 1.74%。结论 该法灵敏、简便、准确和重现性好,可作为该制剂的质量控制标准。

关键词: 丙肝康颗粒剂;质量标准;薄层色谱法;人参皂苷 R_{g_1}

中图分类号:R927.2 文献标识码:B 文章编号:0253-2670(2001)01-0019-03

Studies on standard for quality control of BINGGANKANG GRANULE (A compound herbal preparation for treatment of hepatitis C)

PENG Bo, YUAN Ke, HU Run-huai, HUANG Chao-yang, SUN Wei, ZHANG Xiao-ming

(He'nan College of TCM, Zhengzhou He'nan 450008, China)

Abstract: **Object** The formulation of a standard for the quality control of BINGGANKANG GRANULE was studied. **Methods** The presence of *Fructus Ligustri Lucidi*, *Radix Astragali*, *Rhizoma Polygoni Cuspidati*, *Radix Isatidis* and *Fructus Schisandrae Chinensis* were identified by TLC. The content of ginsenoside R_{g_1} , the main active principle in the granule derived from *Panax quinquefolius* L. was assayed by TLCS. **Results** Linearity was found in the range from 2.08~10.40 μg of ginsenoside R_{g_1} , the average recovery was 97.64% and $RSD = 1.74\%$. **Conclusion** The method was found to be highly sensitive, simple, precise and reproducible and may be used for the quality control of the granule.

Key words: BINGGANKANG GRANULE; quality control standard; TLC; ginsenoside R_{g_1}

丙肝康颗粒剂为我院研制的一种中药新药,由西洋参、女贞子、黄芪、五味子、板蓝根、虎杖、山豆根、甘草、生苡仁和紫河车 10 味中药组成,具有解毒、保肝、降酶和增强机体免疫功能等方面的作用。该制剂在我院一、二附院进行了临床观察,证明对急、慢性丙型肝炎具有很好的疗效。为了控制产品的质量,保证临床用药效果,我们对丙肝颗粒剂的质量标准进行了研究。根据处方中各药材的理化性质,采用薄层色谱法对制剂中的女贞子、黄芪、五味子、板蓝根及虎杖进行了定性鉴别,而该制剂中的君药为西洋参,因本品为多味中药的大复方,群药对测定西洋参所含皂苷成分有干扰,故本文参照文献^[1]采用双波长薄层扫描法测定丙肝康颗粒中人参皂苷 R_{g_1} 的含量,方法简便易行,能排除其它成分的干扰,结果满意,可作为控制该制剂质量的方法。

1 仪器及材料

1.1 仪器:CS-9301 双波长薄层扫描仪(日本岛

津);三用紫外线分析仪(江苏省江阴市申港电光仪器厂生产);点样定量毛细管(Drummond Scientific CO USA);BPQI 型薄板自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂)。

1.2 材料:薄层层析用硅胶 G 及硅胶 GF_{254} (青岛海洋化工厂生产);丙肝康颗粒剂(自制)。处方中药材购自河南省药材公司,经河南省药检所鉴定,符合药典规定。人参皂苷 R_{g_1} 、齐墩果酸、黄芪甲苷、大黄素、靛蓝及五味子甲素对照品由中国药品生物制品检定所提供;实验所用试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 女贞子的鉴别:取本品 10 g,置索氏提取器中,加氯仿 60 mL 提取 2 h,回收氯仿液,残渣加氯仿-甲醇(1:1)溶解定容至 5 mL 作为供试品溶液。另取女贞子对照药材 5 g 和去女贞子的阴性样品 10 g,同法制成对照药材溶液和阴性对照品溶液。再取齐墩果酸对照品,加甲醇溶解配成每 1 mL 含 1 mg

收稿日期:2000-02-14

基金项目:河南省科技攻关资助课题,第981170643号

* 本院中药系毕业实习生

的溶液,作为对照品溶液。吸取对照品溶液 2 μL,其它 3 种溶液 8 μL,分别点于同一硅胶 G 板上,以环己烷-丙酮-乙酸乙酯(4 2 1)为展开剂展开,取出晾干,喷以 20% 硫酸乙醇液显色,电吹风加热至斑

点清晰,供试品色谱中,在与对照品色谱及对照药材色谱的相应位置上显相同的樱红色斑点,阴性对照无干扰(图 1-A)。

2.2 黄芪的鉴别^[2]:取本品 20g,加甲醇适量浸泡

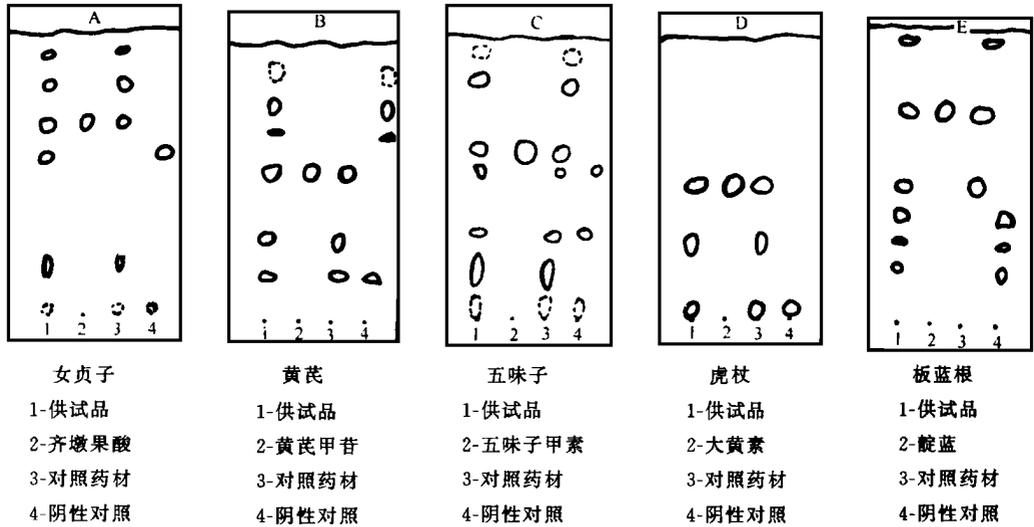


图 1 样品中药材的 TLC 图

过夜,然后索氏提取 6 h,回收甲醇至干。残渣加水 50 mL 溶解,用氯仿萃取 3 次(30, 30, 20 mL),弃去氯仿层,再用水饱和的正丁醇萃取 3 次(30, 20, 20 mL),收集正丁醇液,用正丁醇饱和的 5% NaOH 水溶液洗 3 次(30, 30, 20 mL),再用正丁醇饱和的水液洗 3 次(30, 30, 30 mL)至中性。收集正丁醇液在水浴上蒸干,残渣用甲醇溶解至 5 mL 作为供试品溶液。另取黄芪对照药材 5 g 及去黄芪的阴性样品 20 g,同法制备,作为对照药材溶液和阴性对照品溶液。再取黄芪甲苷对照品,用甲醇溶解配成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。分别吸取上述 4 种溶液各 6 μL 点于同一硅胶 G 板上,以氯仿-甲醇-水(65 35 10)下层为展开剂展开,取出晾干,喷以 20% 硫酸乙醇液,在 105 ℃ 烘约 5 min,供试品色谱中,在与对照品色谱及对照药材色谱的相应位置上显示相同的棕褐色斑点,阴性对照无干扰(图 1-B)。

出晾干,在紫外灯(254 nm)下观察,供试品色谱中,在与对照品及对照药材色谱的相应位置上显相同的蓝色斑点,阴性对照无干扰(图 1-C)。

2.3 五味子的鉴别:取本品 10 g 置索氏提取器中,加入 60 mL 氯仿提取 2 h,挥去氯仿,残渣用甲醇-氯仿(1 1)溶解定容 5 mL 作为供试品溶液。另取五味子对照药材 5 g 及去五味子的阴性对照品 10 g,同法制成对照药材溶液和阴性对照品溶液。再取五味子甲素对照品,用甲醇溶解配成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述对照品溶液 4 μL,其它 3 种溶液 10 μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄板上,以苯-乙酸乙酯(9 1)为展开剂展开,取

2.4 虎杖的鉴别:取本品 10 g 置带塞三角瓶中,加入 30 mL 甲醇浸泡 1 h,过滤,挥去甲醇,残渣用甲醇溶解,定容至 5 mL 作为供试品溶液。另取虎杖对照药材 5 g,加甲醇 30 mL,回流提取 2 h,过滤,滤液蒸干,残渣加入甲醇溶解,定容至 5 mL 作为对照药材溶液。取去虎杖的阴性对照品,照供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。再取大黄素对照品,用甲醇溶解,配成每 1 mL 含 0.2 mg 的对照品溶液。分别吸取上述溶液各 6 μL,点于同一硅胶 G 板上,以石油醚-乙酸乙酯-甲酸(15 5 1)为展开剂展开,取出晾干,可见光下观察,供试品色谱中,在与对照品色谱及对照药材色谱的相应位置上显相同的黄色斑点,阴性对照无干扰(图 1-D)。

2.5 板蓝根的鉴别^[3]:取本品 20 g,加 5 mL 氯仿回流提取 2 h,将提取液浓缩至适量,定容至 1 mL 作为供试品溶液。另取板蓝根对照药材 5 g 及去板蓝根的阴性对照品 20 g,同法制成对照药材溶液和阴性对照品溶液。再取靛蓝对照品,用氯仿溶解配成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液和阴性对照品溶液各 20 μL,对照品溶液和对照药材溶液各 4 μL,点于同一硅胶 G 薄层板上,先用展开剂 A:四氢呋喃-三乙胺(20 1)上行

展开,待条状斑点上移 1 cm 时取出,晾干后将薄层板置展开剂 B 中:苯-氯仿-丙酮(5:4:1)上行展开,可见光下观察,供试品色谱中,在与对照品色谱及对照药材色谱的相应位置上显相同的蓝色斑点,阴性对照无干扰(图 1-E)。

3 含量测定

3.1 薄层层析及薄层扫描条件:吸附剂:硅胶 G-0.3%CMC-Na 搅拌均匀后涂布于玻璃板(10 cm × 20 cm)上,厚度为 0.5 mm,室温阴干后于 105℃ 活化 1 h 后置干燥器中备用。展开剂:氯仿-甲醇-水(65:35:10)下层,展开方式:上行展开,显色剂:20% 硫酸乙醇液,用电吹风加热至斑点清晰。

采用反射法双波长锯齿扫描法,狭缝 1.2 mm × 1.2 mm,线性参数 $S_x = 3$,灵敏度中等,测定样品波长 $\lambda_s = 525$ nm, $\lambda_R = 700$ nm。

3.2 对照品溶液及样品溶液的制备^[4]:精密称取人参皂苷 Rg₁ 5.20 mg,置 5 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,为 1.04 mg/mL。

精密称取丙肝康颗粒剂 10.02 g,研细后置索氏提取器中,以甲醇提取 4 h。回收甲醇至干,残渣用 50 mL 水溶解,置分液漏斗中用乙醚提 4 次(40, 30, 20, 20 mL),弃去乙醚层,水层再用水饱和的正丁醇萃取 4 次(40, 30, 20, 20 mL),合并正丁醇液,用正丁醇饱和的 5% NaOH 水溶液洗 4 次(30, 20, 20, 20 mL),弃去碱水层,再用正丁醇饱和水溶液洗 4 次至中性(30, 30, 30, 30 mL),弃去水液,正丁醇液置水浴上蒸干,残渣加甲醇溶解,定容至 5 mL 容量瓶中备用。

3.3 线性化范围试验:用定量毛细管吸取上述对照品溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 μL 点于同一硅胶 G 薄层板上,以上述展开剂展开,取出晾干后,喷以上述显色剂,用电吹风加热至斑点清晰,放凉后进行扫描测定。以对照品量(μg)为横坐标,以斑点峰面积值为纵坐标绘制标准曲线,求得人参皂苷 Rg₁ 的回归方程 $Y = 523.01X - 115.37$, $r = 0.999$ ($n = 5$)。结果表明人参皂苷 Rg₁ 在 2.04 ~ 10.40 μg 之间点样量与峰面积积分值呈一不通过原点的直线,故用外标两点法定量。

3.4 稳定性试验:在硅胶 G 薄板上,点人参皂苷 Rg₁ 对照品溶液 4 μL,展开,显色后,分别于 30, 60,

90, 120 min 进行扫描测定,测定的峰面积积分值平均值分别为 2 136.374, 2 176.832, 2 197.613, 2 114.975, RSD 为 1.74%。结果表明在 2 h 内斑点峰面积积分值基本稳定。

3.5 精密度及重现性试验:吸取 5 个相同浓度的对照品溶液分别点于同一硅胶 G 薄层板上,按上述条件展开、显色、测定。结果斑点峰面积值的 $RSD = 1.65\%$ 。按上述测定方法对同一批样品重复测定 5 次,其平均量为 12.16 mg/100 g, RSD 为 2.17%。

3.6 加样回收率试验:取本品适量,精密加入人参皂苷 Rg₁ 适量,按上述测定条件进行 5 次回收试验,结果平均回收率为 97.63%, $RSD = 1.64\%$ ($n = 5$)。

3.7 样品含量测定:分别精密吸取对照品溶液 2 和 10 μL,样品溶液 12 和 14 μL,点于同一硅胶 G 薄层板上,依法测定 3 批样品,人参皂苷 Rg₁ 量分别为 12.06, 12.28 和 12.44 mg/100 g, RSD 分别为 2.14%, 2.37% 和 1.76%。

4 讨论

4.1 对女贞子进行定性鉴别时,通过对比实验,选用环己烷-丙酮-乙酸乙酯(4:2:1)展开剂展开,效果最好,能排除其它成分的干扰。

4.2 鉴别黄芪时,由于黄芪甲苷含量较低,且干扰成分复杂;使用硫酸显色剂,灵敏度高,显色背景干扰较大。样品经纯化后,黄芪甲苷斑点清晰,且干扰小,鉴别效果好。

4.3 在板蓝根的定性鉴别中,采用二次同向展开技术。这是由于硅胶对靛蓝有强烈的吸附作用,用展开剂 A 展开时,原点会残留有大量靛蓝;曾用氨水饱和的硅胶板展开,虽然能使原点的靛蓝残留量降低,但靛蓝斑点褪色较快。因此采用二次展开法,可使靛蓝斑点的被吸附消除,且样品中各组分均能得到较好的分离。

参考文献:

- [1] 苏 键. 薄层扫描法测定三七片人参皂苷 Rg₁ 的含量[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(4): 220-221.
- [2] 徐丽华, 何心亮, 赵瀚年. 薄层扫描法测定玉屏风散中黄芪甲苷的含量[J]. 中草药, 1996, 27(2): 86-87.
- [3] 梁文法, 闭业范, 陈 通, 等. 薄层扫描法测定松蓝根和叶中靛玉红与靛蓝的含量[J]. 中草药, 1990, 21(4): 11-12.
- [4] 任世禾. 反相高效液相色谱法测定三七片人参皂苷 Rg₁ 的含量[J]. 中成药, 1996, 18(4): 14-15.

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅