# 宜肝乐颗粒的质量标准研究

蔡崇高*

（浙江温岭医药药材有限公司，浙江 温岭 317500）

摘 要：目的 建立宜肝乐颗粒的定性、定量鉴别方法。方法 采用薄层色谱法对宜肝乐颗粒中鸡矢藤、功劳木、虎杖进行定性鉴别；高效液相色谱法测定宜肝乐颗粒中大黄素，Zorbax $C_{18}$ 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：甲醇-0.1%磷酸溶液（80∶20）；检测波长：288 nm；体积流量：1.0 mL/min；柱温：室温；进样量：10 μL。在此色谱条件下，理论塔板数按大黄素峰计达 3 000 以上，分离度为 2.0。结果 3 味药材的薄层色谱鉴别呈阳性；建立的定量测定方法可用于宜肝乐颗粒中大黄素的测定。结论 薄层色谱法和高效液相色谱法简便、准确、灵敏，可作为宜肝乐颗粒质量控制的有效方法。

关键词：宜肝乐颗粒；鸡矢藤；功劳木；虎杖；大黄素；薄层色谱；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 文献标识码：A 文章编号：0253-2670(2009)05-0739-03

宜肝乐颗粒由鸡矢藤、虎杖、马鞭草、功劳木等药材组成，具有清热解毒，利胆退黄的功效，用于肝胆湿热所致的急慢性乙型肝炎，对降酶、增加肝细胞的复活，减少肝纤维化作用明显，可以消除肝腹水、对慢性肝炎病症减轻有疗效。为了更好地控制本品的质量，保证药物质量和疗效，本实验对方中鸡矢藤、功劳木、虎杖进行了薄层色谱鉴别研究，并采用 HPLC 法对本品中的大黄素进行测定，结果表明该方法简便可靠，重现性好，可作为宜肝乐颗粒质量控制的有效方法。

## 1 材料与仪器

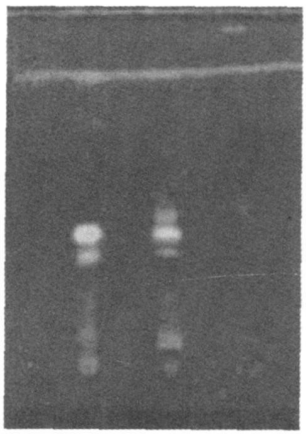
宜肝乐颗粒（遵义万才药业有限责任公司）；缺鸡矢藤、功劳木、虎杖药材阴性对照样品（自制）；鸡矢藤（批号：121256-200402）、功劳木（批号：121461-200501）、虎杖（批号：120980-200503）对照药材，大黄素（批号：110756-200510）、大黄素甲醚（批号：110758-200509）对照品均购自中国药品生物制品检定所。

硅胶 G 薄层板（青岛海洋化工厂）。甲醇为色谱纯，水为重蒸馏水，其余试剂均为分析纯。

微量进样器（上海医用激光仪器厂），ZF—1 型三用紫外分析仪（上海顾村电光仪器厂），Agilent1100 液相色谱仪，浙江大学 N2000 色谱工作站；SartoriusBP211D 电子天平（感量 0.1 mg，0.01 mg；载量 210 g，80 g）。

## 2 方法与结果

2.1 鸡矢藤的薄层色谱鉴别：取本品粉末 1 g，加 75%乙醇 20 mL，超声处理 20 min，滤过，滤液蒸干，残渣加乙醇 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。取缺鸡矢藤药材阴性样品粉末 1 g 和鸡矢藤对照药材 0.5 g，同法制成阴性对照溶液和对照药材溶液。照薄层色谱法《中国药典》2005 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述 3 种溶液各 10 μL，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液（9∶3∶0.8）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365 nm）下检视，见图 1。结果供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点，阴性对照无干扰。




1-对照药材 2-宜肝乐颗粒 3-阴性对照

1-control sample 2-Yiganle Granula 3-negative sample

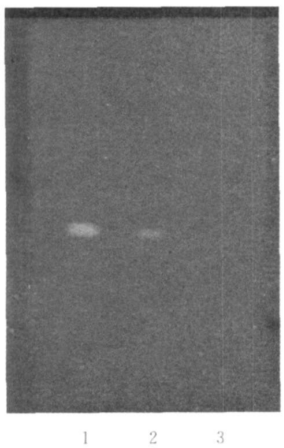
图 1 宜肝乐颗粒中鸡矢藤的薄层色谱图

**Fig. 1 TLC of *Herba et Radix Paederiae Scandentis* in Yiganle Granula**

* 收稿日期：2008-09-19

作者简介：蔡崇高（1958—），男，浙江温岭人，执业药师，台州市药学会常务理事，毕业于成都中医药大学峨嵋学院（原四川省中药学校），从事中药质量与鉴定方面的研究。

2.2 功劳木的薄层色谱鉴别：取本品粉末 1 g，加乙醇 20 mL，超声处理 30 min，滤过，滤液蒸干，残渣加乙醇 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。取缺功劳木药材阴性样品粉末 1 g 和功劳木对照药材 0.1 g，同法制成阴性对照和对照药材溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2005 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述 3 种溶液各 10 μL，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-36% 乙酸-水（7∶1∶2）的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365 nm）下检视，见图 2。可见供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点，阴性对照无干扰。



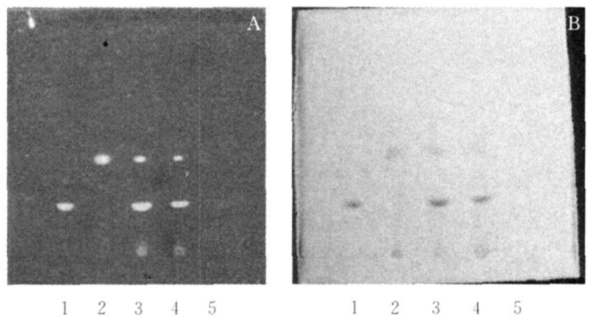

1-对照药材 2-宜肝乐颗粒 3-阴性对照

1-control sample 2-Yiganle Granula 3-negative sample

图 2 宜肝乐颗粒中功劳木的薄层色谱图

**Fig. 2 TLC of *Caulis Mahoniae* in Yiganle Granula**

2.3 虎杖的薄层色谱鉴别：取本品粉末 1 g，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，密塞，称定质量，超声处理 1 h，取出，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，量取续滤液 10 mL，蒸干，残渣加 2.5 mol/L 硫酸 10 mL 使溶解，加三氯甲烷 20 mL，置 80 ℃水浴中加热回流 1 h，取出，放冷，移至分液漏斗中，用少量三氯甲烷洗涤容器，并入分液漏斗中，分取三氯甲烷层，酸液再用三氯甲烷洗涤两次，每次 10 mL，合并三氯甲烷液，蒸干，残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液 5 mL，浓缩至 0.5 mL，作为供试品溶液。取缺虎杖药材阴性样品粉末 1 g，同法制成阴性对照溶液。另取虎杖对照药材 0.1 g，加甲醇 10 mL，超声处理 15 min，滤过，滤液蒸干，残渣加 2.5 mol/L 硫酸溶液 5 mL，加热回流 30 min，放冷，用三氯甲烷提取 2 次，每次 5 mL，合并三氯甲烷液，浓缩至 1 mL，作为对照药材溶液。再取大黄素和大黄素甲醚对照品适量，加甲醇分别制成 1 mg/mL 溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2005 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述 5 种溶液各 10 μL，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚（30～60 ℃）-甲酸乙酯-甲酸（15∶5∶1）的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外灯（365 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应的位置上，显相同的橙黄色荧光斑点；再置氨蒸气中熏后，日光下检视，斑点变为红色，阴性均无干扰。见图 3。




1-大黄素 2-大黄素甲醚 3-对照药材

4-宜肝乐颗粒 5-阴性对照

1-emodin 2-physcion 3-control sample 4-Yiganle Granula

5-negative sample

图 3 宜肝乐颗粒中虎杖在 365 nm（A）和日光（B）的薄层色谱图

**Fig. 3 TLC of *Rhizoma Polygoni Cuspidati* at 365 nm (A) and sunlight (B) in Yiganle Granula**

**3** 大黄素的 HPLC 法测定

3.1 对照品溶液的制备：取经过五氧化二磷干燥 24 h 的大黄素对照品，精密称定，加甲醇制成 20 μg/mL 的溶液，即得。

3.2 供试品溶液的制备：取本品精密称定，研细，取约 1.0 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，密塞，称定质量，超声处理 1 h，取出，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 10 mL，蒸干，残渣加 2.5 mol/L 硫酸 10 mL 使溶解，加三氯甲烷 20 mL，置 80 ℃水浴中加热回流 1 h，取出，放冷，移至分液漏斗中，用少量三氯甲烷洗涤容器，并入分液漏斗中，分取三氯甲烷层，酸液再用三氯甲烷洗涤 2 次，每次 10 mL，合并三氯甲烷液，蒸干，残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，

即得。

3.3 色谱条件与系统适应性试验：Zorbax $C_{18}$ 色谱柱(150 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇-0.1% 磷酸溶液(80∶20)；检测波长：288 nm；体积流量：1.0 mL/min；柱温：室温；进样量：10 μL。在此色谱条件下，理论塔板数按大黄素峰计达 3 000 以上，分离度为 2.0。

3.4 线性范围考察：精密吸取大黄素对照品溶液 2、4、6、8、10 μL 注入液相色谱仪，测定峰面积。以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标，得线性回归方程：$Y=3\,241.794\,4X-49.981\,3$，$r=0.999\,6$，因此大黄素在 0.112 8～0.564 0 μg 线性关系良好。

3.5 精密度试验：精密吸取大黄素对照品溶液 10 μL，按上述 HPLC 条件，重复进样 6 次，结果大黄素峰面积的 RSD 为 1.36%。

3.6 稳定性试验：精密吸取 25.68 μg/mL 大黄素对照品溶液及供试品溶液，于 0、2、4、8、12 h 按上述色谱条件分别进样 10 μL，按大黄素峰面积计算 RSD 值分别为 1.03%、1.21%，表明对照品溶液和供试品溶液均在 12 h 内稳定。

3.7 重现性试验：取批号为 20070309 的样品，制备供试品溶液，按上述方法测定，共测定 6 份，结果大黄素质量分数的平均值为 0.256 8 mg/g，RSD 为 1.85%。

3.8 回收率试验：精密称取批号为 20070309 的样品 9 份，每份约 0.5 g，精密称定，分别精密加入 25.68 μg/mL 大黄素对照品溶液 4、5、6 mL，制备供试品溶液，进样测定，计算大黄素的质量分数，结果平均回收率为 100.25%，RSD 为 1.75%。

3.9 样品测定：取 3 批宜肝乐颗粒样品，每批取样 3 份，制备供试品溶液，按上述色谱条件分别进样 10 μL，测定大黄素峰面积，外标法计算样品中大黄素的质量分数，结果见表 1。

表 1 宜肝乐颗粒中大黄素的测定结果($n=3$)

**Table 1 Determination of emodin in Yiganle Granula ($n=3$)**

| 批号 | 大黄素/(mg·g$^{-1}$) |
|---|---|
| 20060411 | 0.2603 |
| 20060312 | 0.2551 |
| 20060313 | 0.2477 |

## 4 讨论

鸡矢藤鉴别中以三氯甲烷-甲醇-甲酸(8.5∶1.5∶0.5)为展开剂，喷以 30% 硫酸乙醇溶液，于 105 ℃加热至斑点清晰；另外以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(9∶3∶0.8)为展开剂，置紫外光灯(365 nm)下检视，优选鉴别方法，结果选用展开剂三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(9∶3∶0.8)用于宜肝乐颗粒中鸡矢藤的鉴别。

功劳木的鉴别试验中考察了 3 种展开剂正丁醇-36%乙酸-水(7∶1∶2)上层溶液、醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10∶6∶2∶3)、苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液(6∶3∶1.5∶1.5∶0.5)[1]。结果第一种展开时间短、分离能力强、斑点集中、显色清晰，第 2 种展开 1 h 后才获得结果、Rf 值也不理想，第 3 种使用样品量较大，50 μL 才见斑点，并且显色不清晰。因此优选正丁醇-36%乙酸-水(7∶1∶2)的上层溶液作为展开剂鉴别宜肝乐颗粒中功劳木。

虎杖的主要化学成分有大黄素、大黄素甲醚、虎杖苷等，本实验对宜肝乐颗粒中虎杖的鉴别选用大黄素、大黄素甲醚作为对照进行定性考察，同时增加虎杖药材作为对照进行鉴别。考察石油醚(30～60 ℃)-甲酸乙酯-甲酸(15∶5∶1)的上层溶液、苯-醋酸乙酯-甲酸(6∶2∶0.1)、苯-醋酸乙酯(19∶1)3 种展开剂[2]。结果第一种 Rf 值适中、斑点集中、显色明显；第 2 种 Rf 值较大，有边缘效应；第 3 种 Rf 值相差较小、斑点分离不明显；最后确定用石油醚(30～60 ℃)-甲酸乙酯-甲酸(15∶5∶1)的上层溶液展开系统用于宜肝乐颗粒中虎杖的鉴别。

本品处方中虎杖为主药，测定方法参考《中成药标准汇编》内科肝胆分册(WS-10148(ZD-0148)-2002)，选用以大黄素为指标测定；由于药味众多，成分复杂，HPLC 易受到杂质峰干扰，经过多次调整流动相组成和比例方能达到目前良好的峰形和分离效果，但每次分析时间偏长(约 50 min)。该制剂中另含生物碱、鸡矢藤苷等成分较多，极易发生干扰，因此在比较了多种提取方法后，最后采用甲醇超声提取后三氯甲烷回流、萃取，结果表明，该方法可提取完全，减少干扰。

参考文献：

[1] 曾元儿，卢文彪，钟镜金. 复方黄芩片质量标准的研究[J]. 中药新药与临床药理，2003，14(4)：260-262.

[2] 姚关东. 护肝宁片的薄层鉴别[J]. 齐鲁药事，2004，23(8)：25-26.