

• 天然药物 •

肝康丸质量标准研究

何德云, 王艳丽, 姜 玉, 杜建红(成都军区联勤部药检所, 成都 610017)

摘要: 目的: 研究肝康丸的质量标准。方法: 采用 TLC 法对肝康丸中黄芪、丹参进行色谱鉴别, HPLC 法测定三七中人参皂苷 Rg1 的含量, 采用 YWG C18 色谱柱, 流动相为乙腈-水(3:7, v/v)。结果: TLC 法鉴别方法专属性较强, 人参皂苷 Rg1 在 4.05~24.30 μ g 范围内, 浓度与峰面积有良好的线性关系($r=0.9995$), 平均回收率 94.41%, RSD 3.04%。结论: 本标准可有效地控制肝康丸的质量。

关键词: 肝康丸; 黄芪; 丹参; 人参皂苷 Rg1

中图分类号: R286 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2000)04-0230-03

Studies on the quality standard of Gankang pills

HE De-yun, WANG Yan-li, JIANG Yu, DU Jian-hong (Chengdu Military Area Institute for Drug Control of PLA, Chengdu 610017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To study the quality standard of Gankang pills. **METHODS:** Thin layer chromatography was used for simultaneously identification of Radix Astragali and Radix Salviae. The content of Ginsenoside Rg1 in Radix Notoginseng was assayed by HPLC using YWG C18 column with acetonitrile-water (3:7, v/v) as the mobile. **RESULTS:** The TLC identification was highly specific and the spots were clear and concentrated. An excellent linear relationship was obtained between the peak area and the concentration of Ginsenoside Rg1 with the range of 4.05~24.30 μ g. The average recovery of Ginsenoside Rg1 was 94.41% and the RSD was 3.04%. **CONCLUSION:** This quality standard can be used for effectively controlling the quality of Gankang pills.

KEY WORDS: Gankang pills, *Radix Astragali*, *Radix Salviae*, ginsenoside Rg1

肝康丸是由三七、黄芪、丹参等组成的大蜜丸。作为医院制剂, 临床用于治疗慢性肝炎和肝硬化有较好的疗效。为了有效地控制其质量, 我们对本品中主要药味黄芪和丹参进行了薄层鉴别, 并用高效液相色谱法测定了三七中人参皂苷 Rg1 的含量。

1 仪器与试剂

BIO-RAD 高效液相色谱仪包括 Model 402T 泵, Model 1706 紫外/可见检测器; YWG C18 柱(大连依利特公司)。对照品: 黄芪甲甙、丹参酮 IIA、人参皂苷 Rg1(中国药品生物制品检定所); 肝康丸由四川省军区门诊部制备, 硅胶(青岛海洋化工厂), 甲醇、乙醚等试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 黄芪的鉴别 取本品1丸, 切碎, 加硅藻土4g, 研匀, 加乙醚50ml, 超声处理5min, 滤过, 残渣挥去乙醚, 加甲醇50ml, 置水浴上加热回流1h, 残渣加水10ml, 分次使溶解, 转移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇提取2次, 每次20ml, 合并提取液, 用0.25mol/L 氢氧化钠溶液洗3次, 每次5ml, 弃去氢氧化钠溶液, 再用正丁醇饱和的水洗至中性, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇1ml使溶解, 作为供试品溶液。另取黄芪甲甙对照品, 加甲醇制成每1ml含1mg的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各2 μ l, 分别点于同一用羧甲基纤维素钠制成的硅胶 G 薄板上,

以氯仿-甲醇-水(13:7:2, v/v/v)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇液,在105℃烘约5min显色。在供试品色谱中与对照品色谱相应的位置上于日光下显相同的棕褐色斑点,紫外光灯(365nm)下显相同的橙黄色斑点^[1],结果见图1。

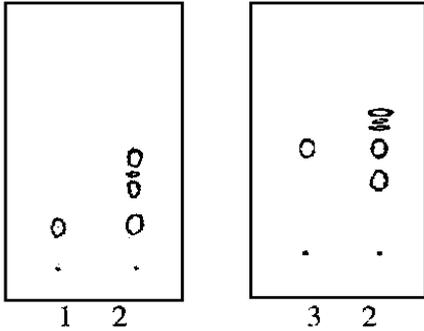


图1 肝康丸的薄层色谱鉴别

1. 黄芪甲苷标准品溶液 2 供试品溶液
3. 丹参酮IIA标准品溶液

2.1.2 丹参鉴别 取本品2丸,切碎,加硅藻土8g,研匀,加甲醇50ml,置水浴上加热回流30min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醚60ml,分6次搅拌洗涤,合并乙醚洗涤液,蒸干,残渣加无水乙醇2ml使溶解,作为供试品溶液。另取丹参酮IIA对照品,加无水乙醇制成每1ml含0.5mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液8μl、对照品溶液4μl,分别点于同一以羧甲基纤维素钠制成的硅胶G薄板上,以苯-醋酸乙酯(19:1, v/v)为展开剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中在与丹参酮IIA对照品色谱相应的位置上,显相同的颜色斑点^[1],结果见图2。

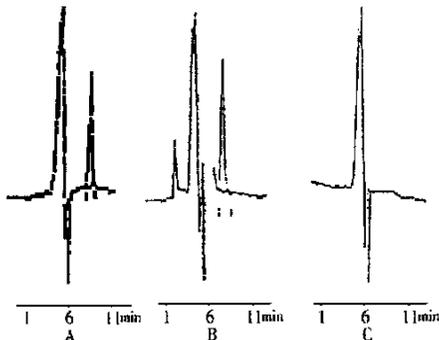


图2 肝康丸中人参皂苷Rg1色谱图
A. 对照品溶液; B. 样品溶液; C. 溶剂空白
1. 人参皂苷Rg1

2.2 人参皂苷Rg1含量的测定

2.2.1 色谱条件^[2] YWG C18 色谱柱, 10μ, 300×4.5mm; C18 保护柱: 10μ, 50×4.5mm; 流动相: 乙腈-水(3:7, v/v), 流速: 0.6ml/min; 检测波长: 203nm^[3]; 柱温: 室温; 进样量: 20μl。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的人参皂苷 Rg1 对照品适量, 加甲醇制成 2.025mg/ml 的标准溶液。

2.2.3 线性关系 精密量取 2.025mg/ml 人参皂苷 Rg1 标准溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 与 6.0ml 分别置 10ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 混匀后依次进样测定, 以峰面积(Y)为纵座标, 相应进样量(μg)为横座标(X), 进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 41.03X + 23.89$, $r = 0.9995$ ($n = 6$)。结果表明, 人参皂苷 Rg1 在 4.05~24.30μg 范围内, 峰面积与浓度有良好的线性关系。

2.2.4 精密性、稳定性及重现性试验 取同一人参皂苷 Rg1 标准液, 重复进样6次, 得 $RSD = 1.02%$ ($n = 5$)。取同一人参皂苷 Rg1 标准液, 依次于0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 进样测定, 测得量分别为 16.12、16.30、16.08、16.16、15.84、15.68、15.77, 平均15.99%, $RSD = 1.44%$ ($n = 7$); 说明3h内基本稳定。取同一批号样品按样品测定方法平行测定, 结果人参皂苷 Rg1 的含量分别为 0.196%、0.187%、0.201%、0.191%、0.188%, 平均0.193%, $RSD = 3.04%$ ($n = 5$)。

2.2.5 加样回收率试验 分别精密称取不同批次已知含量的肝康丸5份, 每份2g, 精密加入人参皂苷 Rg1 对照品溶液(1.012mg/ml) 1ml, 按含量测定方法测定并计算回收率, 结果测得量分别为 0.965、0.940、0.960、0.968、0.944mg, 平均回收率为 94.41%, $RSD = 1.32%$ 。

2.2.6 样品测定 取本品约 2.5g, 精密称定, 切碎, 加硅藻土 1g, 研匀, 置索氏提取中, 用甲醇提取至提取液无色, 回收甲醇, 残渣加乙醚 30ml 浸泡 5min, 倾去乙醚液, 加水 10ml, 分次使溶液, 转移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇萃取 3 次, 每次 20ml, 合并提取液, 用氨试液洗 2

何首乌水溶性成分 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷的体外抗氧化作用研究

刘厚淳¹, 陈万生²(1. 淮南职业医学专科学校, 淮南 232001; 2. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433)

摘要: 目的: 研究何首乌中提取的二苯乙烯类成分 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I (ST1) 的体外抗氧化作用。方法: 通过比色法检测抗氧化物质总抗氧化以及清除活性氧能力。因为 Fenton 反应产生的 OH⁻ 量与 H₂O₂ 的量成正比, 当用 Gress 试剂显色时, 形成红色物质, 其呈色与 OH⁻ 的多少成正比关系。利用这一原理, 进行清除活性氧能力的测定。结果: ST1 可清除体系中的 H₂O₂, 当其浓度为 2.4 × 10⁻³ mol/L 时, 总抗氧化能力为 70.6 ± 13.8 单位, 清除活性氧单位为 23.6 ± 2.2, 与对照组相比具有显著性差异, P < 0.01。结论: ST1 具有较强的体外抗氧化能力。

关键词: 何首乌; 抗氧化; 活性氧

中图分类号: R285.5

文献标识码: B

文章编号: 1006-0111(2000)04-0232-03

机体氧化反应可产生大量具有高度活性的氧自由基, 正常情况下, 机体防御体系可对抗氧化的应激反应, 清除氧自由基。如果机体氧化反应亢进或氧化防御系统功能产生障碍, 导致体内氧自由基不能及时清除, 则会损伤生物分子如蛋白质、DNA, 引起细胞膜脂质过氧化, 造成机体一系列病理生理改变, 导致各种疾病的产生^[1]。因此, 从天然产物中寻找抗活性氧的

物质已经引起国内外广泛重视。

中药抗氧化剂与人工抗氧化剂相比, 具有易得, 经济, 已有长期使用经验和毒副作用小等明显优点。中药何首乌具有补肝肾, 益精血, 抗衰老等作用^[2,3]。本文采用比色法检测天然产物何首乌中提取的 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I 的体外抗氧化作用, 方法简便实用, 易被一般实验室采用。

次, 每次 20ml, 弃去氨试液, 用正丁醇饱和的水洗 3 次, 每次 20ml, 离心 5min (3000r/min), 弃去水层, 正丁醇液蒸干, 残渣用甲醇定容至 25ml, 用 0.45μm 滤膜滤过, 作为供试品溶液^[4]。

取供试品溶液与对照品溶液按上述色谱条件分别测定, 以外标法计算含量。结果见表 1 和图 2; 要求人参皂苷 Rg1 含量应不低于 0.19%。

表 1 肝康丸样品中人参皂苷 Rg1 的测定结果

批号	测得量 (%)				平均 (%)	RSD (%)
990429	0.184	0.180	0.184	0.181	0.182	1.13
990617	0.190	0.187	0.191	0.189	0.189	0.90
990720	0.185	0.188	0.186	0.184	0.186	0.92

3 小结与讨论

采用本质量控制方法对肝康丸进行薄层鉴别, 方法专属、稳定, 重现性好, 我们对多批次样

品进行了测定, 均能检出与对照品相同的斑点, 有效地鉴别黄芪和丹参。

采用 HPLC 法测定三七中人参皂苷 Rg1 的含量, 方法稳定, 精密度高, 重现性好, 各批次含量基本稳定, 为肝康丸质量的有效控制提供了较简便、实用的方法。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 1995. 62, 272.
- [2] 任世禾, 陈雯芳, 黄新生, 等. 反相高效液相色谱法测定三七片中人参皂苷 Rg1 的含量[J]. 中成药, 1996, 18(4): 14.
- [3] 刘军, 王燕恒, 傅承光, 等. 高效液相色谱法分析人参皂苷[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(2): 132.
- [4] 闻平, 钱忠直, 刘丽娟, 等. 脑得生丸质量标准研究[J]. 中成药, 1997, 19(6): 15.

收稿日期: 2000-05-28