

薄层扫描法测定华海乙肝泡腾颗粒剂中黄芪甲苷的含量

王秀冬¹, 张兆旺², 孙秀梅², 吕青涛², 管华诗³, 徐家敏³(1. 解放军第106医院, 济南 250022; 2. 山东中医药大学, 济南 250014; 3. 青岛海洋大学, 青岛 266003)

摘要: 目的: 为控制华海乙肝泡腾颗粒剂的质量建立黄芪甲苷测定方法。方法: 采用双波长薄层扫描法。结果: 平均回收率 100.7%, $RSD = 1.59\%$ 。结论: 此法可作为控制华少乙肝泡腾颗粒剂质量的方法之一。

关键词: 华海乙肝泡腾颗粒剂; 半仿生提取法; 黄芪甲苷; 薄层扫描法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2001)04-0226-03

Determination of astragaloside IV in Hua-hai-yi-gan granules by TLC-scanning

WANG Xi-dong¹, ZHANG Zhao-wang², SUN Xiu-mei², LU Qing-tao², GUAN Hua-shi³, XU Jia-min³ (1. The 106th Hospital of PLA, Jinan 250022, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 3. Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To determine astragaloside IV in Hua-hai-yi-gan granules. **METHOD:** Dual wavelength TLC-scanning was used. **RESULTS:** The average recovery was 100.7% and RSD was 1.59%. **CONCLUSION:** The method is available for quality control of Hua-hai-yi-gan granules.

KEY WORDS: Hua-hai-yi-gan granules; SBE; astragaloside IV; TLC-scanning

华海乙肝泡腾颗粒剂由黄芪、柴胡、虎杖、五味子等组成。为控制华海乙肝泡腾颗粒剂的质量, 本文采用双波长薄层扫描法测定华海乙肝泡腾颗粒剂中黄芪甲苷的含量。

1 仪器与药品

CS-9301 薄层扫描仪(日本岛津), pH S-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂), AE240S 型电子分析天平(瑞士 METTLER)。

实验用药材经张兆旺教授鉴定, 黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Beg. 的干燥根; 虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Siebet Zucc. 的干燥根茎和根; 柴胡为伞形科植物北柴胡 *Bupleurum chinenses* DC. 的根; 五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill. 的干燥成熟果实。质量符合《中国药典》1995 版一部标准。辅料 HPMC、小苏打、柠檬酸、甜菊苷质量符合《中国药典》1995 版二部标准。对照品黄芪甲苷(中国药品生物制品检定所, 20mg, 781-9002)。样品: 华海乙肝泡腾颗粒, 以选定的药材组合方式提取^[1]、干燥、制备。水为自制高纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照液的制备

取黄芪甲苷对照品适量, 精密称定, 以甲醇配成 $0.640\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的溶液作为对照液。

2.2 样品液的制备

取华海乙肝泡腾颗粒剂适量, 研细, 精密称取 5g, 加硅藻土 3g 拌匀, 用无水乙醇 150ml 于索氏提取器中回流提取 6h, 挥干溶剂, 如水 10ml 溶解, 以乙醚萃取 (20ml × 3), 取水层, 以正丁醇萃取 (20ml × 3), 合并正丁醇液, 用 5% 碳酸氢钠溶液 (10ml × 2) 和蒸馏水 (10ml) 洗涤, 取正丁醇层, 挥干, 残渣以水 5ml 溶解, 加于 D101 大孔吸附树脂柱上, 依此以水 100ml 洗脱, 弃去, 30% 乙醇 30ml 洗脱, 弃去, 70% 乙醇 50ml 洗脱, 收集, 挥干, 用甲醇溶解并定容至 5ml, 作为成品供试液。同法制得成品缺黄芪阴性供试液、辅料供试液。

称取 10~20 目的黄芪粗粉, 浸泡 30min 后, 用“半仿生提取法”(SBE 法)^[2,3] 分别煎提 3 次(加水量为药材重量的 8, 6, 6 倍, 煎煮 2.0, 1.0, 0.5h, 水的 pH 值为 2.0, 6.5, 8.5)^[4], 分别滤过, 离心, 上清液浓缩, 合并浓缩液, 定容于 100ml 容量瓶中。吸取该样品液 10.0ml, 加入硅藻土 3.0g, 拌匀, 蒸干, 以无水乙醇 150ml 索氏回流提取 9h, 蒸干, 用甲醇溶

解并定容于 25ml 容量瓶中, 得黄芪药材供试液。

2.3 层析条件

取硅胶 GF₂₅₄ 与 0.3% CMC-Na 溶液(1:3) 研匀, 用涂布器铺成 20cm×20cm 的薄层板, 自然干燥, 备用。展开剂: 以氯仿- 甲醇- 水(65:35:10) 下层液 20ml 加丁酮 2ml, 混匀。显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液。

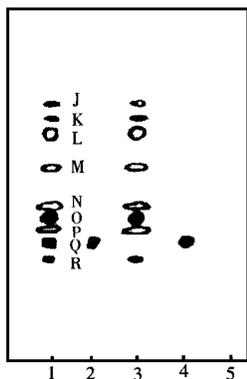


图 1 TLC 图

1. 成品 2. 黄芪 3. 成品缺黄芪 4. 黄芪甲苷 5. 辅料
日光下: O、Q、R 为棕褐色
365nm 下: K、L、M、N、P 为黄绿色, O 为紫色, Q、R 为橙黄色

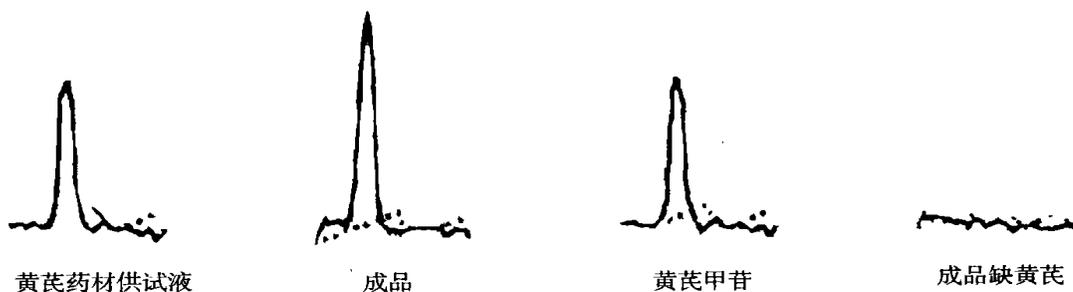


图 2 薄层色谱扫描图

2.5.3 线性关系考察 在同一块薄层板上分别点黄芪甲苷对照品液, 点样量: 1.28、2.56、3.84、5.12、6.40 μ g, 依法测定各斑点峰面积积分值。以点样量为横坐标, 斑点峰面积积分为纵坐标, 其回归方程为: $Y = 354 + 8.138 \times 10^{-3} X$, $r = 0.9998$, $n = 5$, 表明黄芪甲苷在 1.28~6.40 μ g 范围内线性关系良好。

2.5.4 精密度试验 同板精密度试验: 在同一块薄层板上点黄芪甲苷对照液共 6 个点, 点样量均为 2.56 μ g, 依法测定各斑点峰面积积分值。结果 RSD 为 2.18% ($n = 6$), 表明精密度良好。异板精密度试验: 在 6 块薄层板上点黄芪甲苷对照液, 点样量均为 2.56 μ g, 依法测定各斑点峰面积积分值。结果 RSD 为 2.26% ($n = 6$), 表明精密度良好。

2.5.5 稳定性试验 在薄层板上点黄芪甲苷对照液, 点样量为 2.56 μ g, 依法测定斑点峰面积积分值。并每隔 30min 测定 1 次, 结果吸收度在 3h 内稳定, RSD 为 1.98%。

2.4 薄层定性

将以上 4 种供试液及对照液点在同一块薄层板上, 按 2.3 项下条件上行展开 15cm、晾干、喷显色剂, 100 $^{\circ}$ C 烘 4min, 于日光及 365nm 紫外灯下观察, 结果见图 1。在与黄芪甲苷对照品相应的位置上, 成品、黄芪药材呈颜色相同的斑点。成品缺黄芪阴性供试液、辅料供试液无此斑点。

2.5 薄层定量

2.5.1 扫描条件 取对照液 2 μ l、4 μ l 及成品供试液 8 μ l, 依次点于薄层板上, 依法展开、显色, 在 370~700nm 测绘黄芪甲苷斑点的原位吸收光谱, 在 510nm 有最大吸收, 故取 $\lambda_s = 510\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$, $SX = 3$, 对斑点进行反射法锯齿形扫描, 测定其积分值。

2.5.2 空白干扰实验 将成品供试液, 成品缺黄芪阴性供试液, 黄芪药材供试液, 黄芪甲苷对照液, 点于同一块薄层板上, 依法展开、显色、扫描, 扫描图见图 2。结果成品缺黄芪阴性供试液在与黄芪甲苷对应的位置上基本为一直线, 表明在该条件下测定黄芪甲苷无干扰。

2.5.6 重复性试验 取同一批成品 5g, 平行称取 6 份, 精密称定, 按成品供试液制备方法制备试液, 依法点样测定各样品中黄芪甲苷的含量。结果 RSD 为 2.16%, 重复法良好。

2.5.7 黄芪甲苷的含量测定 取成品供试液, 依法点样测定样品中黄芪甲苷的含量, 结果见表 1, 其 95% 置信区间为 0.3424~0.4926mg/g, 规定含量不得小于 0.03%。

表 1 华海乙肝泡腾颗粒剂中黄芪甲苷的含量测定

批号	测定值 (mg/g)			$\bar{x} \pm s$ (mg/g)	RSD (%)
20000303	0.4397	0.4638	0.4513	0.4516 \pm 0.01205	2.67
20000325	0.3895	0.4163	0.4143	0.4067 \pm 0.01493	3.67
20000428	0.3789	0.4066	0.3971	0.3943 \pm 0.01411	2.58

2.5.8 回收率试验 取已知含量的成品约 2.5g, 精密称定, 共称 5 份, 各加入黄芪甲苷对照液 1.28mg, 按成品供试液制备方法制备试液, 依法点样测定各样品中黄芪甲苷的含量, 计算回收率, 结果见表 2。

表2 黄芪甲苷回收率试验结果

称样量 (g)	样品中含加入量 (mg)	测得回收率 (%)	回收率 (%)	$\bar{x} \pm s$ (%)	RSD (%)
2.5031	1.1304	1.28	2.4225	100.9	
2.5148	1.1357	1.28	2.4381	101.8	
2.5053	1.1314	1.28	2.394	98.6	100.7 ± 0.016
2.5012	1.1295	1.28	2.4436	102.7	
2.5085	1.1328	1.28	2.409	99.7	

3 小结与讨论

3.1 本文采用双波长薄层扫描法测定华海乙肝泡腾颗粒剂中黄芪甲苷的含量,此法简便、重现性好,平均回收率为 100.7%。

3.2 华海乙肝泡腾颗粒剂由黄芪、柴胡、虎杖、五味子等组成。诸药配伍,具有清热利湿,解毒祛邪,滋阴助阳,疏肝解郁之功效。用于乙型肝炎的治疗。从临床药理研究看,黄芪对机体免疫功能有显著的促进和调节作用,有诱生干扰素作用,虎杖能抑制乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性,柴胡具有保护肝细胞损伤和促进肝脏中脂质代谢作用。五味子具有抗

肝脏损伤和诱导药物代谢酶的作用。黄芪中的黄芪甲苷能明显促进淋巴结 B 细胞培养殖分化和血浆细胞抗体合成,使再生肝的 DNA 含量明显增加。可作为控制华海乙肝泡腾颗粒剂质量的一个指标。

3.3 在选择薄层条件时,曾用氯仿-甲醇-水(13:6:2)的下层液为展开剂^[5],但在本实验条件下,分离效果不理想,故加入丁酮,改变展开剂的极性,结果分离效果改善。

参考文献:

- [1] 王秀冬,张兆旺,孙秀梅,等. 华海乙肝方 SBE 法提取药材组合方式的优选[J]. 中国中药杂志,2000,25(10):601.
- [2] 张兆旺,孙秀梅. 试论“半仿生提法”制备中药口服制剂[J]. 中国中药杂志,1995,20(11):670.
- [3] 张瑞亭,张兆旺,孙秀梅. 思维方式的转换与半仿生提取法[J]. 中国中药杂志,1997,22(9):542.
- [4] 吕青涛,张兆旺,孙秀梅,等. 乙肝颗粒剂 4 种提取方法提取液的成分比较[J]. 中成药,2000,22(11):752.
- [5] 中华人民共和国药典一部[S]. 2000 年版. 2000. 249.

收稿日期:2001-02-27

• 药物不良反应 •

乳酸环丙沙星注射液静滴致局部组织坏死 1 例

马亚萍, 郑 谊, 晏芳婷(解放军第 5 医院, 银川 750004)

关键词: 乳酸环丙沙星; 局部组织坏死

中图分类号: R974

文献标识码: D

文章编号: 1006-0111(2001)04-0228-01

1 临床资料

患者,男,66a,因咳嗽咯痰、气喘、呼吸困难来我院就诊,诊断为肺心病,收入心肾内科住院治疗。查:T 37.5℃,P 88 次/min,尿、便常规正常,血常规 WBC $7.7 \times 10^9/L$,N 83%,诊断为肺心病伴肺部感染,结石性胆囊炎。给予改善心功能、抗感染治疗,医师给予 Po 硝酸异山梨醇 10mg 3 次/d,卡托普利 12.5mg 2 次/d,复方甘草合剂 10ml 3 次/d; iv gtt 乳酸环丙沙星注射液 100ml(含环丙沙星 200mg),当滴入 30ml 时,患者前臂沿静脉血管走向发红发痒,经减慢滴速,症状有所缓解,因自述无药物过敏史,医师认为是静滴乳酸环丙沙星注射液所致的轻微静脉炎。d2 继续 iv gtt 乳酸环丙沙星注射液,5min 后又出现上述症状,减慢滴速,局部红肿仍未消退且有加重,腕关节至肘关节开始出现近一周径的红斑,自觉烧灼感,触之红肿部位温度已明显超过患者的正常体温,立即停用乳酸环丙沙星注射液,用 MgSO₄ 溶液热敷无效,且局部出现硬块,皮肤颜色变黑,皮

下组织坏死。d3,停用环丙沙星,改为足部 iv gtt 氧氟沙星 G 注射液,同样继续服用口服药物,观察 3d,再未出现类似症状。患者住院近 3mo 直至病愈出院,上肢输液部位造成的局部出现硬块经多次理疗,皮下坏死组织部分被吸收。

2 讨论

环丙沙星、氧氟沙星均为喹诺酮类抗菌药,本例患者 iv gtt 环丙沙星后出现沿静脉血管走向发红发痒的轻微静脉炎,后又出现组织坏死。改为足部 iv gtt 氧氟沙星 G 注射液时再未出现上述症状,故笔者认为上述不良反应是乳酸环丙沙星注射液所致。故建议:①医生在使用环丙沙星注射液时,一定要详细询问患者有无本品所致有关不良反应,以免引起严重的类似症状发生。②本品滴速与其不良反应有关,应严格控制其静滴的速度。③对于患心血管系统病症的老年患者,给予 iv gtt 乳酸环丙沙星注射液时一定要慎重,应尽量少用。

收稿日期:2001-04-13