

• 科研交流 •

护胎饮制剂质量标准实验分析

金 芳 (南京市中医院 210001)

护胎饮是以黄芩、川断、白术、党参等7味中药制成的复方口服液,具固冲安胎之功效。经南京市中医院妇科多年临床验证:对先兆流产、习惯性流产具显著疗效,药效实验也证实它的安胎作用^[1]。为确保制剂质量和临床疗效,开发护胎新药,对方中主药黄芩、川断、白术进行定性鉴别及含量测定,总结出一套简单、准确、重现性好的质控方法。

1 仪器与试药

LC-6A HPLC 仪(日本岛津公司),C-R3A 数据处理机,SPD-6AV 可见-紫外检测仪;硅胶 H、G 板(购自青岛海洋仪器厂);黄芩甙标品(购自中国药品生物制品检定所)经 HPLC 测定,纯度为98%;川断、白术对照品(江苏省药品检验所提供);所用试剂为分析纯,乙腈、甲醇为色谱纯。

2 液相色谱条件

Shim-pack clc-ODS 柱(∅ 5mm × 200mm),流动相:甲醇:乙腈:1%醋酸水(48:5:47),检测波长273nm,柱温30℃,流量0.5ml/min。在此条件下,黄芩甙保留时间 t_r = 15.75min,样品中黄芩甙和其余成分得到良好分离。去黄芩的阴性对照品则无干扰。见图1。

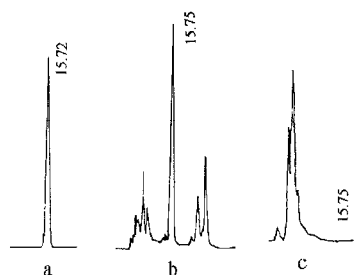


图1 a. 黄芩甙; b. 护胎饮; c. 去黄芩的阴性对照品

3 实验方法和内容

3.1 定性鉴别(TLC)

3.1.1 黄芩的鉴别 取护胎饮5ml 浓缩至稠膏状,加入适量硅藻土研匀烘干,用15ml 50%乙醇超声波提取20min,提取液浓缩至1ml 作为样品供试液。另取缺黄芩的护胎饮按上述方法制得阴性对照品试液。取黄芩甙标品1mg 溶于5ml 50%乙醇中作为对照品试液。吸取各试液5μl 分别点于同一块硅胶 G 预制板上,用甲苯:乙酸乙酯:氯仿:甲醇(8:12:4:4)为展开剂,饱和10min 后上行展开10cm,喷香草醛-浓硫酸(不能加热),在供试液与黄芩甙相应位置上有一棕黄色斑点,而阴性对照品则没有。见图2。

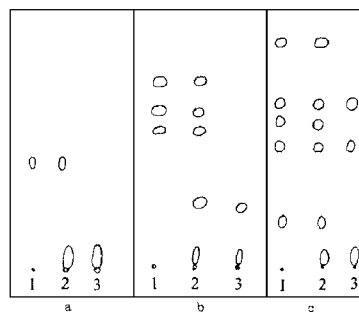


图2 a. 1 黄芩甙, 2 护胎饮, 3 阴性对照品; b. 1 川断, 2 护胎饮, 3 阴性对照品; c. 1 白术, 2 护胎饮, 3 阴性对照品

3.1.2 川断的鉴别 取护胎饮5ml 浓缩后加适量硅藻土拌匀烘干,加15ml 乙醚超声波提取15min,提取液浓缩至1ml 作为供试液。另取缺川断的模拟制剂5ml、川断1g 制得的5ml 水煎液,按供试液制备方法分别制得样品阴性对照品试液及川断对照品试液。吸取上述3种试液5μl 分别点于同一块硅胶 H 预制板上,以甲苯:乙酸乙酯:氯仿:甲醇(8:12:4:4)为展开剂上行展开10cm,香草醛-浓硫酸显色,烘至斑点清晰,在样品与川断对照品相应位置上有一紫红色斑点,而阴性对照品则没有。见图2。

3.1.3 白术的鉴别 取护胎饮20ml按川断项下样品供试液方法制得乙醚提取液,另取白术1g的水煎液5ml,缺白术的护胎饮模拟制剂20ml,按同法制得白术对照品及阴性对照品的乙醚提取液。吸取上述3种供试液10 μ l分别点于同一块硅胶G预制板上,以石油醚:乙酸乙酯(20:5)为展开剂上行展开8cm,以香草醛-浓硫酸显色,烘至斑点清楚,护胎饮与白术对照品在相应位置上有一致的樱红色斑点,见图2。

3.2 HPLC测定黄芩甙含量

3.2.1 标准曲线绘制和线性考察 精密称取黄芩甙标品24.6mg,用50%乙醇定容到50ml,分别吸取标准品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml,用50%乙醇定容到10ml。精密吸取标准试液各10 μ l,按前述色谱条件测定峰面积,以峰面积对黄芩甙含量求回归直线方程: $Y = 666.67 \times x (\mu\text{g}) - 103.87, r = 0.9993$ 。表明黄芩甙在24.6~150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间有良好的线性关系。

3.2.2 供试液的制备与样品的测定 取聚酰胺粉(80目),用湿法装柱至10cm高($\varnothing 15 \times 100$)mm。精密量取护胎饮3.0ml浓缩后加1g聚酰胺粉研匀,均匀装在柱顶部,用50%乙醇冲洗,收集冲洗液100ml于容量瓶中作为样品供试液。吸取上述供试液10 μ l注入HPLC仪,照上述色谱条件测定,用外标两点法定量,测得结果见表1。

表1 护胎饮中黄芩甙含量测定结果

样品号	黄芩甙含量(mg/10ml $n=3$)	RSD(%)
950423	21.67	2.14
950601	18.85	2.85
950829	20.04	1.98

3.2.3 加样回收率实验 精密量取3ml护胎饮,加入标准品溶液,按样品供试液制备法

收集100ml 50%乙醇洗脱液,吸取10 μ l进样测定,以实测值与原样品含被测成分之差,除以加入标品量计算平均回收率为97.5%,RSD为2.08%,见表2。

表2 加样回收率试验

样品中黄芩甙量 mg	加入标品量 mg	测得黄芩甙总量 mg	回收率 %
7.22	5.04	12.06	96.06
7.22	5.82	12.93	98.50
7.22	7.08	14.07	96.88
7.22	6.93	14.00	97.94
7.22	6.47	13.57	98.19

3.2.4 方法重现性试验 精密吸取同一批号的护胎饮样品5份,按样品供试液制备、测定,表明方法重现性良好,其RSD=2.98%。

3.2.5 稳定性及精密度试验 吸取同一份供试液10 μ l,连续进样5次,其峰面积积分的变异系数为1.78%,表明仪器精密度良好。稳定性试验表明黄芩甙在14h内基本稳定,不影响测定。

4 结果及讨论

黄芩甙极性大,易溶于50%乙醇、甲醇。但如果仅用50%乙醇或甲醇作溶媒提取黄芩甙,那么同时被提出的极性成分太多,黄芩甙难以分离,且对色谱柱的污染较大。通过实验证明:将护胎饮直接过聚酰胺柱,不仅能除去大量强极性成分及脂溶性成分,使黄芩甙几乎达到基线分离,而且操作简单、快速,重现性及加样回收率较高,是复方中药制剂中黄芩甙提取、分离、测定的好方法。

参考文献

- 1 张新建. 护胎饮安胎护婴的药效学研究. 中药药理与临床,1996年特刊

(收稿:1997-01-02)