

# 肝复康片质量标准研究

文萍<sup>1</sup>, 王凤林<sup>2</sup>, 余良忠<sup>1\*</sup>, 虞金宝<sup>1</sup>

(1. 江西省中医药研究院, 南昌 330046; 2. 武警总医院药剂科, 北京 100039)

**[摘要]** 目的: 建立肝复康片质量标准。方法: 用 TLC 鉴别白花蛇舌草、太子参; 用 HPLC 测定五味子中五味子醇甲含量, 色谱柱为 Agilent HC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (55:45), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 测定波长 250 nm。结果: 定性鉴别分离度好、重复性好、专属性强; 五味子醇甲线性范围为 0.112 ~ 5.644 μg ( $r = 0.9999$ ), 平均回收率 97.03%, RSD 1.38%, 精密度 RSD 1.65% ( $n = 6$ ), 重复性 RSD 1.43% ( $n = 6$ )。结论: 方法可靠、准确、专属性强, 可用于该制剂的质量控制。

**[关键词]** 肝复康片; 五味子醇甲; 白花蛇舌草; 太子参; 高效液相; 薄层色谱法

**[中图分类号]** 284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0074-04

## Quality Standard for Ganfukang Tablets

WEN Ping<sup>1</sup>, WANG Feng-lin<sup>2</sup>, YU Liang-zhong<sup>1\*</sup>, YU Jin-bao<sup>1</sup>

(1. Jiangxi Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330046, China;  
2. General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality standard for Ganfukang tablets. **Method:** *Hedyotis diffusa* and *Pseudostellaria* were identified by TLC. Schisandrin was determined by HPLC. The chromatographic condition was as follows: column of Agilent HC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase consisting of acetonitrile-H<sub>2</sub>O (55:45), flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and detection wavelength of 250 nm. Ferrous sulphate was determined by spectrophotometry. **Result:** The characteristic identification by TLC was distinct and highly specific. Schisandrin was linear in the range of 0.112 – 5.644 μg ( $r = 0.99998$ ), the average recovery was 97.03% (RSD 1.38%) with precision RSD of 1.5% ( $n = 6$ ), repetition RSD of 1.65% ( $n = 6$ ) and stability RSD of 1.43%. **Conclusion:** The method is reliable, accurate, specific and can be used for quality control of the production.

**[Key words]** Ganfukang tablets; schisandrin; *Hedyotis diffusa*; *Pseudostellaria*; HPLC; TLC

肝复康片系根据《中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂》第 7 册所载的肝复康丸, 经剂型改革研制而成, 由五味子、太子参、白花蛇舌草组成, 具有收敛, 益气, 解毒, 降谷丙转氨酶功效, 用于治疗急、慢性肝炎, 早期肝硬化和肝功能不良。为了更好的控制产品质量, 确保临床疗效, 我们对其质量

标准进行了提高研究, 增加了五味子、太子参、白花蛇舌草的薄层鉴别; 用高效液相色谱法测定了五味子醇甲的含量, 并进行了相关方法学研究。

### 1 仪器与药品

HP-1100 高效液相色谱仪 (美国, 包括 1322A 在线脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1315B 二极管阵列检测器、HP 化学工作站), ZF-2 型三用紫外分析仪 (上海安亭电子仪器厂), PBQ-I 薄层自动铺板器 (重庆南岸实验电器厂); CQ-250 超声波清洗器 (上海船舶电子设备研究所), 定量毛细管 (美国 Drummond 公司), Simplicity<sup>TM</sup> 型超纯水系统 (Millipore 公司), AG-135 电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 五味子醇甲对照品 (含量测定

**[收稿日期]** 20100719(001)

**[第一作者]** 文萍, 学士, 助理研究员, 研究方向: 中药新药研发及质量标准, Tel: 0791-8501125, E-mail: wenp818@yahoo.cn

**[通讯作者]** \* 余良忠, 硕士, 副研究员, 研究方向: 中药分析及制剂, Tel: 0791-8501125, E-mail: ylz94@yahoo.cn

用,批号 110857-200406),五味子甲素对照品(含量测定用,批号 0764-9603),五味子乙素对照品(含量测定用,批号 110765-200205),五味子对照药材(批号 922-9202),太子参对照药材(批号 1004-9902,1004-200203),白花蛇舌草对照药材(批号 1183-200101)均购自中国药品生物制品检定所,硅胶 G、GF<sub>254</sub>(薄层色谱用,青岛海洋化工有限公司),肝复康片(批号 080101,080102,080201,080202,江西省中医药研究院中试车间生产),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

**2.1.1 五味子 TLC** 取本品研细,称取 3 g,加乙酸乙酯 40 mL 超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取五味子对照药材 1 g,加三氯甲烷 20 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。再取除五味子外的其他处方药材,按制备工艺制成缺五味子的阴性样品,再同法制成阴性对照溶液。分别吸取上述对照药材溶液 2  $\mu\text{L}$  及供试品溶液和阴性对照溶液各 4  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上,以石油醚(30~60  $^{\circ}\text{C}$ )-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的斑点;而阴性对照在相应的位置无斑点。

**2.1.2 太子参 TLC** 取本品研细,称取 6 g,加甲醇 60 mL 超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 溶解,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.2 cm,柱高 10 cm),用水 100 mL 洗脱,弃去洗脱液,再用 50% 甲醇洗脱,收集 50% 甲醇洗脱液,蒸干,残渣加水 20 mL 溶解,醋酸乙酯萃取 3 次,每次 20 mL,分取乙酸乙酯液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取太子参对照药材 2 g,加水煎煮 1 h,滤过,滤液浓缩至约 20 mL,醋酸乙酯萃取 3 次,每次 20 mL,分取醋酸乙酯液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。再取除太子参外的其他处方药材,按制备工艺制成缺太子参的阴性样品,再同法制成阴性对照溶液。分别吸取上述溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,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-丙酮-冰醋酸(13:1:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 磷钼酸乙醇液,105  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点显色清晰,日光下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;而阴性对照在相应的位置无斑点。

**2.1.3 白花蛇舌草 TLC** 取本品研细,称取 1 g,加甲醇 40 mL 超声处理 30 min,滤过,滤液水浴蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,加浓氨水 1 mL,用乙醚提取 2 次,每次 30 mL,乙醚液弃去,水液加入浓盐酸 1 mL,摇匀,再用乙醚提取 2 次,每次 30 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取白花蛇舌草对照药材 1 g,加水煎煮 30 min,滤过,滤液浓缩至约 30 mL,余下同法制成对照药材溶液。再取除白花蛇舌草外的其他处方药材,按制备工艺制成缺白花蛇舌草的阴性样品,再同法制成阴性对照溶液。分别吸取上述对照药材溶液 2  $\mu\text{L}$  及供试品溶液和阴性对照溶液各 5  $\mu\text{L}$ ,分别点于聚酰胺薄膜上,以 36% 乙酸为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光主斑点;而阴性对照在相应的位置无斑点。

### 2.2 五味子醇甲含量测定

**2.2.1 色谱条件** Agilent HC-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈-水(55:45),检测波长 250 nm,流速 1.0 mL  $\text{min}^{-1}$ ,柱温为室温,进样量 10  $\mu\text{L}$ ,理论板数按五味子醇甲峰计算应不低于 2 000。在此条件下对照品、供试品在约 10 min 有一色谱峰(图 1)。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取五味子醇甲对照品适量,加甲醇制成 0.05 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的溶液,摇匀,即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 片,研细,取约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 具塞三角瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,稍放置,再称定质量,用甲醇补足减少的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 阴性对照试验** 按处方取不含五味子的其他药材,照本制剂的制备工艺制成阴性对照制剂,再按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液,按样品测定方法注入液相色谱仪,结果在五味子醇甲色谱峰相应的位置上,无色谱峰出现,阴性对照对样品测定无干扰。

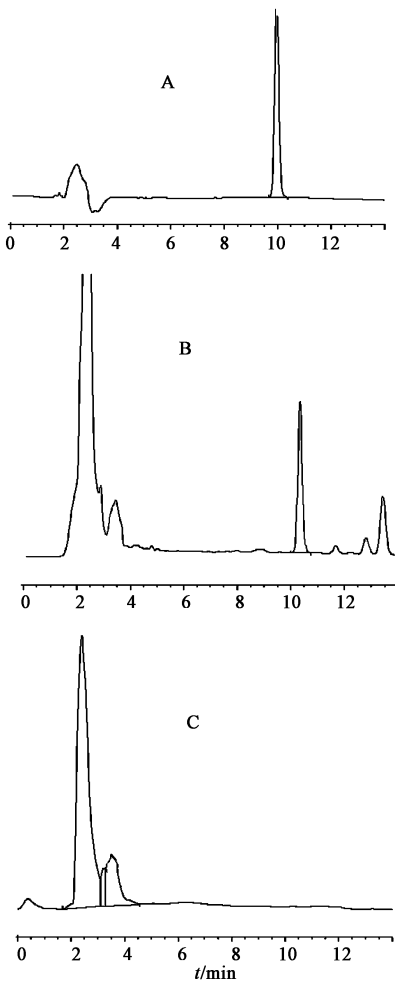


图 1 肝复康片 HPLC

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1. 五味子醇甲

**2.2.5 线性关系考察** 精密称取五味子醇甲对照品 14.11 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1 mL 含五味子醇甲 564.4 μg)。取此对照品加甲醇稀释成 11.288, 22.576, 56.44, 112.88, 282.22, 564.4 mg·L<sup>-1</sup>, 分别吸取 10 μL, 注入液相色谱仪中进行测定, 将样品浓度与峰面积进行线性回归处理, 方程为  $Y = 53.903 + 37.040X (r = 0.99998)$ , 五味子醇甲在 0.11288 ~ 5.644 μg 呈良好的线性关系。

**2.2.6 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪中, 连续进样 6 次, 测定供试品溶液中五味子醇甲峰面积值, 结果 RSD 1.65%。

**2.2.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 时间内注入液相色谱仪中, 测定五味子醇甲峰面积, 结果表明, 本品在 12 h 内稳定, RSD 1.86%。

**2.2.8 重复性试验** 取同一批样品 (批号 080101) 6 份, 分别以本法处理进行测定, 结果测得五味子醇甲平均含量为 3.09 mg/片, RSD 1.43%。

**2.2.9 加样回收率试验** 取本品 10 片, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 共 6 份, 置具塞三角瓶中, 另取高浓度五味子醇甲对照品 (0.5644 g·L<sup>-1</sup>) 10 mL 加甲醇稀释至 250 mL, 在 6 份样品中分别精密加入此对照品溶液 25 mL, 余下同供试品溶液制备方法制备, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 五味子醇甲回收率测定

No.	样品 中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.5902	0.5644	1.1498	99.15	97.03	1.38
2	0.6091	0.5644	1.1597	97.55		
3	0.5867	0.5644	1.1260	95.55		
4	0.6033	0.5644	1.1503	96.92		
5	0.5667	0.5644	1.1065	95.64		
6	0.6028	0.5644	1.1522	97.34		

**2.2.10 样品测定** 取本品 10 片, 研细, 取约 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞三角瓶中, 余下照确定的方法制成供试品溶液, 注入液相仪进行外标一点法测定。测定另 3 批样品结果为每片 3.24, 3.58, 3.70 mg/片。

### 3 讨论

太子参主要含有大量微量元素, 氨基酸, 糖类, 苷类, 磷脂类等<sup>[14]</sup>, 以对照药材为对照进行 TLC 试验, 制剂样品甲醇提取液中杂质较多, 为减少杂质干扰, 采用通过 D101 型大孔吸附树脂柱和乙酸乙酯萃取二步纯化, 并对不同展开剂和显色剂进行考察, 结果以三氯甲烷-丙酮-冰醋酸 (13:1:0.2) 为展开剂和 10% 磷钼酸乙醇溶液为显色剂的分离效果较好, 且 Rf 值适中, 斑点清晰, 阴性无干扰。

白花蛇舌草主要含有蒽醌类、环烯醚萜苷类、黄酮类等成分<sup>[5]</sup>, 以对照药材为对照进行 TLC 试验, 为减少杂质干扰, 采用调碱后用乙醚提取, 通过试验发现以聚酰胺薄膜展开有一明显对应荧光斑点, 以 36% 乙酸为展开剂分离效果较好, 且 Rf 值适中, 同时阴性无干扰。

五味子主要药理活性成分为木脂素类化合物, 有五味子醇甲、五味子醇乙、五味子素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子酯甲、五味子酯乙

等<sup>[6-7]</sup>。在本次研究中,拟对五味子中五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素进行含量测定,参考文献[8-12]中方法试验,结果显示,在进行梯度进样时,供试品溶液的基线难以平衡,且五味子甲素和五味子乙素的含量较低,难以同时进行3种成分的含量测定,因此参考《中国药典》2005年版一部五味子药材的质量控制方法,测定制剂五味子醇甲的含量,并增加以五味子对照药材为对照的TLC鉴别。五味子醇甲的高效液相色谱法含量测定,文献资料[8-12]中多以甲醇作为提取溶剂,考虑本制剂中五味子以70%乙醇进行提取,因此为了优选提取溶剂,我们选择甲醇、50%乙醇、70%乙醇、95%乙醇为提取溶剂进行考察,结果显示以70%乙醇、甲醇提取效果较好,且二者没有明显差别,考虑甲醇提取的样品中杂质较少,因此确定以甲醇进行提取;对提取溶剂用量和提取时间进行了考察,根据实验结果确定了最佳溶剂用量和提取时间。

#### [参考文献]

- [1] 王苗星,徐绥绪,张国刚,等.太子参化学成分的研究[J].中国药物化学杂志,1992,2(3):65.
- [2] 王苗星,徐绥绪,邱峰,等.太子参化学成分的研究[J].中草药,1992,23(6):1331.
- [3] 许益民,宗颂梅,王永珍.太子参和山茱萸中磷脂成分

的原子吸收光谱法测定[J].南京中医学院学报,1991,3:156.

- [4] 谭宁华,赵守训,陈昌祥,等.太子参的化学研究[J].云南植物研究,1991,13(4):336.
- [5] 康兴东,李铤,毛羽,等.白花蛇舌草的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2007(8):479.
- [6] 郑占虎,董泽宏,余靖.中药现代研究与临床应用第1卷[M].北京:学苑出版社,1997:148.
- [7] 刘继永,王英平,刘洪章.五味子化学成分及药理研究进展[J].特产研究,2005,27(3):49.
- [8] 中国药典.一部[S].2005:44.
- [9] 李正国,于立佐,张爱岑.RP-HPLC测定降酶灵胶囊中五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的含量[J].中成药,2004,26(8):618.
- [10] 陆兔林,殷放宙,李林,等.RP-HPLC法测定五味子药材中五味子醇甲和五味子乙素的含量[J].中成药,2006,28(8):1210.
- [11] 葛会奇,贾天柱.HPLC测定五味子的最佳采取期及五味子醇甲在果实中的分布[J].中成药,2007,29(6):862.
- [12] 郑春英,李宏涛,吴桐,等.HPLC法同时测定五味子一部位中3种木脂素类成分含量[J].食品科学,2007,28(7):376.

[责任编辑 蔡仲德]

## 《中国中药杂志》2011年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医药科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2011年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.cjcm.com.cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。