

肝炎净注射液质量标准的研究

赵志军(河北省药品检验所,河北 石家庄 050011)

摘要:目的 制定肝炎净注射液的质量标准。方法 对栀子、黄芩、茵陈进行了薄层鉴别。用高效液相色谱法测定了制剂中栀子苷的含量。固定相为 Shim Pack ODS C₁₈柱,以乙腈-水(12:88)为流动相,检测波长 240nm。结果 栀子苷在 0.0797~3.9872 μ g 内呈良好的线性关系。栀子苷的平均回收率为 99.92%($n=5$),RSD 为 1.22%。结论 方法简便、准确、重现性好。可用于控制肝炎净注射液质量。

关键词:肝炎净注射液;栀子苷;HPLC;黄芩;栀子;茵陈

中图分类号:R978.7;R927 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2004)02-0144-02

Studies on the quality standard of Ganyanjing injections

ZHAO Zhi-jun(Hebei Provincial Institute for Drug Control , Shijiazhuang 050011 , China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish quality control method for Ganyanjing injections. **METHOD** *Fructus Gardeniae*, *Radix Scutellariae* and *Herba Artemisiae Scopariae* were identified by thin layer chromatography and the content of geniposide was determined by HPLC. The column was Shim Pack ODS C₁₈(4.6 \times 150mm,5 μ m), mobile phase was acetonitrile-water(12:88), and the detective wavelength was 240nm. **RESULTS** The method of TLC identification was specificity. The linearity for geniposide was obtained over the range of 0.0797~3.9872 μ g. The average recovery of geniposide was 99.92% and RSD was 1.22% ($n=5$). **CONCLUSION** The method is simple and feasible, highly accurate and precise. It can be used for the quality control of Ganyanjing injections.

KEY WORDS:Ganyanjing injections;geniposide;HPLC;*Radix Scutellariae*; *Fructus Gardeniae*; *Herba Artemisiae Scopariae*

肝炎净注射液为河北省药品标准 1975 年版收载的品种,该药方剂以汉代张仲景《伤寒论》治湿热黄疸第一药方《茵陈蒿汤》为主方,加配黄芩、板蓝根、胆汁膏组成,具有清热、利湿、解毒的功效,临床用于急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化属肝胆湿热证。原标准除常规检查外,无其它检测项目,笔者也未见有关报道。为有效控制其制剂质量,对所含的 3 味中药进行了薄层鉴别,并采用高效液相法测定了栀子苷的含量。鉴别专属,斑点清晰。含量测定方法简便、快捷、准确。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪:岛津 LC-10ADVP 泵;SPD-M10AVP 二极管阵列检测器;CLASS-VP LC 色谱工作站。硅胶 G(青岛海洋化工厂生产)。肝炎净注射液(批号 20020101,20020102,20020203)、阴性样品及茵陈药材由河北金牛制药有限公司提供。处方中所有药材由本所孙宝惠副主任药师鉴定。黄芩苷、栀子苷对照品(由中国药品生物制品检定所提供,批号分别为 0715-9909,0749-200007)。乙腈为色谱纯,其它试剂试药均为分析纯。

2 方法与结果

作者简介:赵志军,女,34 岁,主管药师,1990 年 7 月毕业于沈阳药科大学中药专业,2002 年 7 月获河北医科大学药物分析专业硕士学位,现从事中药质量标准和中药新药的研究与开发工作。

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 栀子 取本品 20mL,置水浴上蒸至近干,残留物加丙酮 2mL 超声使溶解,上清液作为供试品溶液。另取栀子苷对照品,加丙酮制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。再取按处方工艺制成的不含栀子的样品,同法制成阴性对照液。吸取上述供试品溶液及阴性对照液各 5 μ L,对照品溶液 2 μ 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,以醋酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液(必要时加热至斑点显色清晰)。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照液无干扰。

2.1.2 黄芩 取本品 20mL,置水浴上蒸至约 1mL,加 0.2% 氢氧化钠甲醇溶液 2mL 使溶解,过滤,滤液作为供试品溶液。另取黄芩苷对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。再取按处方工艺制成的不含黄芩的样品,同法制成阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一含 4%醋酸钠的羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:1:1)为展开剂,展开,

取出,晾干,喷以5%的三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照液无干扰。

2.1.3 茵陈 取本品20 mL,用醋酸乙酯振摇提取2次,每次15 mL,合并醋酸乙酯液,蒸干,加甲醇1 mL溶解,作为供试品溶液。另取茵陈对照药材1.5 g,加水30 mL回流1 h,滤过,滤液用醋酸乙酯振摇提取2次,每次15 mL,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣用甲醇1 mL溶解,作为对照药材溶液。再取按处方工艺制成的不含茵陈的样品,同法制成阴性对照液。吸取供试品溶液、对照药材溶液及阴性对照液各10 μ 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,以甲苯-甲酸乙酯-甲酸(6:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,100 $^{\circ}$ C加热5~10 min后,放凉,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,显相同的2个亮蓝色荧光斑点,阴性对照液无干扰。

2.2 栀子苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Shim-pack VP-ODS C_{18} 柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m); 乙腈-水(12:88)为流动相;检测波长为240 nm;流速0.8 mL \cdot min $^{-1}$;柱温:室温。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取肝炎净注射液2 mL,置50 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。再精密吸取15 mL置25 mL量瓶中,用50%甲醇稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.3 对照品溶液制备 精密称取栀子苷对照品约12.5 mg,置25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。再精密吸取2 mL置25 mL量瓶中,用50%甲醇稀释至刻度,制成每1 mL含40 μ g的溶液即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取按处方比例及生产工艺制备的不含栀子原药材的肝炎净注射液,按供试品溶液的制备同法操作即得。

2.2.5 检测波长的确定 应用二极管阵列检测器和色谱工作站测得供试品中栀子苷色谱峰与栀子苷对照品色谱峰的吸收光谱,选定最大吸收波长240 nm为测定波长。

2.2.6 选择性实验 吸取栀子苷对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各20 μ L,分别注入色谱仪。结果表明,以240 nm为检测波长,供试品在与栀子苷对照品相应位置上有相似的吸收峰,而阴性对照溶液在与对照品溶液相应的位置上则无吸收峰,说明其他药味不干扰栀子苷的检测。

2.2.7 标准曲线的制备 将浓度为0.004, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.15, 0.20 mg \cdot mL $^{-1}$ 的对照品溶液分别吸取20 μ L注入色谱仪,以进样的对照品溶液浓度C(mg \cdot mL $^{-1}$)为横坐标,峰面积积分值A为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $A = 3.999 \times 10^7 C + 2.350 \times 10^4$, $r = 0.9999$ ($n = 7$)。实验表明,栀子苷对照品在0.0797~3.9872 μ g范围内线性关系良好。

2.2.8 精密度试验 精密吸取栀子苷对照品溶液与某一供试品溶液各20 μ L重复进样5次,测定峰面积积分值,对照品峰面积积分值的RSD为0.14%,供试品峰面积积分值的RSD

为0.84%,说明仪器性能良好。

2.2.9 稳定性试验 取同一对照品溶液与同一供试品溶液,分别在0, 2, 7, 9, 11 h进样测定,栀子苷对照品峰面积积分值的RSD为1.56%,供试品栀子苷峰面积积分值的RSD为1.92%,说明栀子苷至少在11 h内稳定。

2.2.10 重复性试验 同一批号样品分别取样5份,照“2.2.2”项下方法操作,测定,计算含量。平均含量为1.66 mg \cdot mL $^{-1}$, RSD为1.38%。

2.2.11 回收率试验 采用加样回收试验,取同一批供试品6份,一份作为随行样品,其余5份,称取一定量的样品,加入一定量的对照品,按供试品制备所述方法进行提取测定,计算回收率。5次测定的平均回收率为99.93%, RSD为1.23%。结果见表1。

表1 加样回收试验结果

Tab 1 The result of recovery test

添加栀子苷对照品的量(mg)	所加栀子苷对照品的测出量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1.3457	1.3638	101.3		
1.3457	1.3551	100.7		
1.3457	1.3502	100.3	99.93	1.23
1.3457	1.3283	98.71		
1.3457	1.3267	98.59		

2.2.12 样品测定 取样品3批,依法测定含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果

Tab 2 Determination results for samples of different batch

批号	栀子苷含量(mg \cdot mL $^{-1}$)	平均含量(mg \cdot mL $^{-1}$)
20020101	2.3582	
20020102	2.1322	2.3447
20020203	2.5436	

3 讨论

3.1 茵陈 以其善能利胆清热,去湿除黄的作用为本处方君药,臣以栀子,佐以黄芩等以通利三焦,泻热逐淤,茵陈、栀子、黄芩作为君臣佐使药,有必要对其进行鉴别来控制投料。

3.2 肝炎净注射液 是复方制剂,成分复杂,采用HPLC不经分离,直接测定其中栀子苷的含量,方法简便快速,经加样回收试验及精密度试验,认为结果可靠。

3.3 比较了多种流动相,认为乙腈-水(12:88)最佳,能排除干扰,使样品中的栀子苷分离度好,峰形尖锐不拖尾。

3.4 样品提取时 采用先将样品用甲醇溶解并稀释至刻度,再定量吸取续滤液用50%甲醇进行第二步稀释,这时,溶液轻微变浊,用微孔滤膜滤过,得澄清溶液,此过程可除去部分杂质,减少对色谱柱的污染,延长其使用寿命。

参考文献

- [1] 中国药典2000年版一部[S].2000:201;248.
- [2] 黄雪梅,蒙大平. RP-HPLC测定龙胆泻肝口服液栀子苷的含量[J]. 中成药,2001,23(7):489.

收稿日期:2002-09-25