

胆宁分散片质量标准研究

赵晓霞, 张瑞峰, 吴涛*

(北京因科瑞斯生物制品研究所, 北京 102206)

[摘要] 目的: 建立胆宁分散片的质量标准。方法: 用 TLC 法对方中中药味进行了定性鉴别研究; 用 HPLC 法进行了成品中有效成分水飞蓟素的含量测定, 选用 ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇-水-冰醋酸 (42:58:1) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 288 nm, 柱温 40℃。结果: 建立了胆宁分散片的质量标准, 包括人工牛黄、延胡索、大黄的薄层鉴别方法和有效成分水飞蓟素的含量测定方法。结论: 该方法能很好地控制产品的质量, 可以作为胆宁分散片的质量标准。

[关键词] 胆宁分散片; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0069-03

Study on Quality Control of Danning Dispersible Tablets

ZHAO Xiao-xia, ZHANG Rui-feng, WU Tao*

(Beijing Increase Institute of Healthy Product, Beijing 102206, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality control method for Danning Dispersible Tablets. **Method:** TLC and HPLC were used. **Result:** Calculus Bovis Antifactus, Rhizoma Corydalis, Radix et Rhizoma Rhei were identified by TLC. Silybin was determined by HPLC. ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column was used and the column temperature was set at 40℃. The mobile phase was consisted with methanol-water-acetic acid (42:58:1) and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was at 288 nm. **Conclusion:** The method established can be used to control the quality of Danning Dispersible Tablets.

[Key words] Danning Dispersible Tablets; quality control; TLC; HPLC

胆宁分散片主要由人工牛黄、水飞蓟素、盐酸小檗碱、延胡索、大黄、蒲公英、金钱草、薄荷油 8 味组成, 具有清热化湿、疏肝利胆的功效, 主要用于急性慢性胆囊炎、胆道感染、胆结石等症的治疗^[1]。原制剂为糖衣片, 改剂型为分散片后, 避免了包衣工艺繁琐, 崩解时间较长的不足, 具有服用方便、崩解迅速、吸收快和生物利用度高等特点, 同时工艺简单。为了更加有效的控制产品质量, 保证其疗效, 特对制剂的质量标准进行了研究, 采用薄层色谱法对方中人工牛黄、延胡索、大黄进行了定性鉴别, 采用 HPLC

法对水飞蓟素进行了含量测定, 所建方法应能有效地控制制剂的质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器 BP211D 型十万分之一分析天平(德国 Sartorius); 岛津 LC-2010 高效液相色谱仪; KQ250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 硅胶 G 薄层板。

1.2 试药 胆酸(批号 100078-200414, 供含量测定用); 去氧胆酸(批号 110724-200207, 供鉴别用); 水飞蓟素(批号 0856-9902, 供含量测定用); 盐酸小檗碱(批号 110713-200208, 供含量测定用) 以上均购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(迪马公司, 批号 20040623), 其他试剂均为分析纯, 水为娃哈哈纯净水; 胆宁分散片由北京因科瑞斯生物制品研究所提供。

[收稿日期] 20100121(002)

[作者简介] 赵晓霞, 副研究员; 研究方向: 中药新药研究开发

[通讯作者] 吴涛, 工程师; 研究方向中药制剂; Tel: (010) 81766827; E-mail: wt126@hotmail.com

2 薄层鉴别

2.1 人工牛黄的薄层鉴别 取本品 6 片, 研细, 加 40% 乙醇 30 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加稀盐酸调 pH 至 2~3, 用三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 30 mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方比例称取缺人工牛黄的群药, 按制备工艺制得阴性样品制剂, 再按供试品溶液的制备方法制得阴性样品溶液。另取胆酸和去氧胆酸对照品, 分别加乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验, 吸取上述溶液各 4 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-冰醋酸-水(7.5:2:0.4) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 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, 且阴性无干扰。

2.2 延胡索的薄层鉴别 取本品 4 片, 研细, 加浓氨水 5 mL 润湿, 加三氯甲烷 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方比例称取缺延胡索的群药, 按制备工艺制得阴性样品制剂, 再按供试品溶液的制备方法制得阴性样品溶液。另取延胡索对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验, 吸取上述供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μ L, 对照品溶液 3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-三氯甲烷-甲醇-二乙胺(10:6:1:0.1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以稀碘化铋钾溶液。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, 且阴性无干扰。

2.3 大黄的薄层鉴别 取本品 4 片, 研细, 加甲醇 10 mL, 浸渍 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加盐酸 0.5 mL 及三氯甲烷 10 mL, 加热回流

30 min, 置分液漏斗中, 静置, 分取三氯甲烷层, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方比例称取缺大黄的群药, 按制备工艺制得阴性样品制剂, 再按供试品溶液的制备方法制得阴性样品溶液。另取大黄药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录

B) 试验, 吸取供试品溶液和阴性样品溶液各 6 μ L、对照药材溶液 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ 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 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, 显相同颜色的荧光斑点, 且阴性无干扰。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱 ZORBAX RX-C₁₈(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 色谱柱。流动相 甲醇-水-冰醋酸(42:58:1)。流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 检测波长 288 nm; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 进样量 5 μ L; 理论板数按水飞蓟宾峰计算应不低于 1 500。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取水飞蓟宾对照品适量, 加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 含 45.0 μ g 的溶液, 即得。

3.3 供试品溶液的制备 取本品 5 片, 研细, 取约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W; 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.4 阴性样品溶液的制备 按处方比例及其制备工艺制成缺水飞蓟素的阴性样品制剂, 再按供试品溶液制备方法制备, 即得。

3.5 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 5 μ L, 分别注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件进行测定, 结果水飞蓟宾峰 2 个色谱峰与其他色谱峰分离良好, 且阴性样品在相应位置无

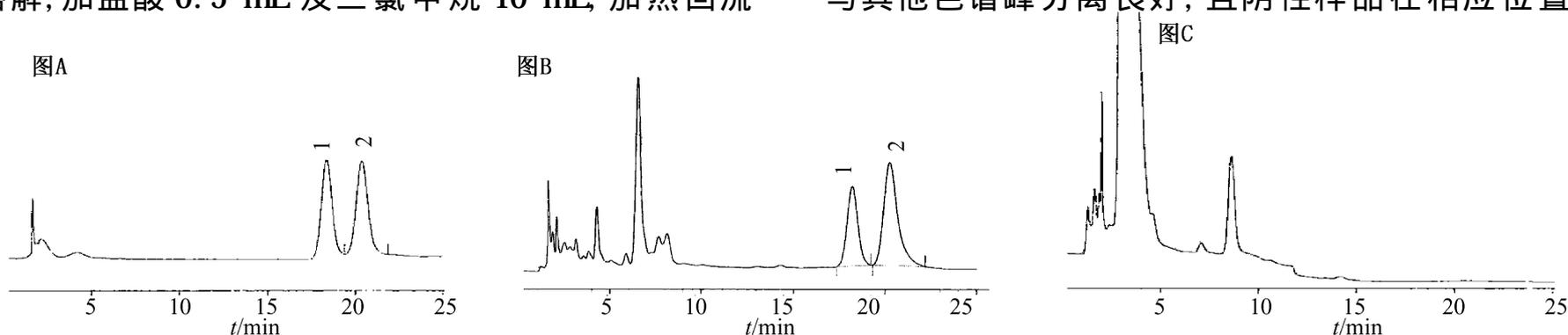


图 1 胆宁分散片中水飞蓟宾的含量测定 HPLC 图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 水飞蓟宾; 2. 异水飞蓟宾

干扰峰, 见图 1。

3.6 线性关系考察 取水飞蓟宾对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 83 μg 的溶液。分别从中精密吸取 1, 2, 5, 7, 10 mL 溶液至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。再分别精密吸取上述溶液各 5 μL 注入液相色谱仪测定, 以进样量 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=2.07 \times 10^6 X-1.15 \times 10^4$, $r=0.9999$ 。结果表明, 水飞蓟宾的进样量在 0.041 5 ~ 0.415 μg 线性关系良好。

3.7 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液, 注入液相色谱仪测定, 连续进样 5 次, 记录峰面积, 测得

RSD 为 0.60% ($n=5$)。

3.8 稳定性试验 分别于供试品溶液配制后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 精密吸取同一供试品液注入液相色谱仪测定, 记录峰面积, 测得 RSD 为 0.50% ($n=6$)。结果表明供试品溶液 24 h 内稳定。

3.9 重复性试验 取同一批样品, 精密称取 6 份, 按照上述方法测定含量, 结果均值为 11.08 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 值为 1.21% ($n=6$)。

3.10 加样回收率试验 取已知含量 (11.08 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 的样品适量, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 平行称取 6 份, 分别加入一定量的水飞蓟宾对照品, 照上述方法测定含量, 结果见表 1。

表 1 胆宁分散片中水飞蓟宾的加样回收率试验

No.	样品称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.110 2	1.221	1.195	2.420 6	100.38		
2	0.104 8	1.161 2	1.195	2.349 0	99.40		
3	0.100 7	1.115 8	1.195	2.317 4	100.55	99.60	1.01
4	0.101 7	1.126 8	1.195	2.299 3	98.12		
5	0.100 3	1.111 3	1.195	2.291 8	98.78		
6	0.099 2	1.009 1	1.195	2.298 7	100.38		

3.11 样品测定 照样品含量测定方法分别测定了 3 批胆宁分散片的含量, 结果 3 批样品平均含量为 5.62 $\text{mg}/\text{片}$, 根据测定结果, 暂定本品每片含水飞蓟宾 ($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$) 应不得少于 4.7 mg 。

4 讨论

原制剂质量标准^[1]中仅记载了人工牛黄的薄层鉴别, 按此方法进行重复, 结果背景干扰严重, 后改为氯仿-乙醚-冰醋酸(2:2:1)^[2]进行鉴别, 结果仍无法取得较好的分离效果, 经多次试验, 最终确定了上述重现性好, 阴性无干扰的 TLC 鉴别方法。同时对方中其他药材也进行了摸索, 增加了延胡索及大黄的薄层鉴别方法。

原制剂质量标准^[1]中未记载有含量测定项, 尚不能有效地控制产品质量, 因此参考相关文献, 对甲醇-水(45:55)^[3]、甲醇(用磷酸调节 $\text{pH}=5.0$)^[4]等

条件进行摸索及调整, 最终确定了甲醇-水-冰醋酸(42:58:1)为流动相, 同时对方法学进行了考察, 建立了分离效果好, 专属性强, 且易于操作的含量测定方法, 能更好的控制产品质量。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部. 中药成方制剂[S]. 12 册: WS3-B-2388-97.

[2] 徐云友, 牛春辉. 胆宁片质量标准研究[J]. 长春中医药大学学报, 2004, 20(1): 41.

[3] 林海, 肖艳萍, 黄云, 等. 复方益肝灵胶囊中水飞蓟宾的含量测定研究[J]. 湖南中医杂志, 2004, 20(3): 72.

[4] 王辛, 李惠彬, 张炜. 高效液相色谱法检测保健食品中水飞蓟宾[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13: 209.

[责任编辑 顾雪竹]