

## 圣愈胶囊质量标准的研究及急性毒性试验

陈维中<sup>1</sup>, 贺全山<sup>1</sup>, 刘 昕<sup>2</sup> (1. 南京军区福州总医院药剂科, 福建 福州 350025; 2. 福建中医学院药学系, 福建 福州 350003)

**摘要** 目的: 建立圣愈胶囊的质量标准, 并进行 LD<sub>50</sub> 测定。方法: 采用薄层色谱法对黄芪、党参、白芍和紫河车进行色谱鉴别; 醇溶性浸出物测定法测定其浸出物含量; 改良寇氏法计算小鼠给药的 LD<sub>50</sub>。结果: 薄层色谱法鉴别效果良好。检查项目均符合规定; 其醇浸出物含量不低于 16.3%; LD<sub>50</sub> 为 764.8 mg/kg, 其平均可信限为 682.5 ~ 847.2 mg/kg。结论: 所建立的质量控制方法准确可行, 制剂安全有效。

**关键词** 圣愈胶囊; 质量标准; 薄层色谱法; LD<sub>50</sub>

中图分类号: R286.0 文献标识码: B 文章编号: 1006-0111(2005)06-0371-04

## Studies on the quality standard and acute toxicity of Shengyu capsule

CHEN Wei-zhong<sup>1</sup>, HE Quan-shan<sup>1</sup>, LIU Xin<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital, Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China; 2. Department of Pharmacy, Fujian College of TCM, Fuzhou 350003, China)

**ABSTRACT Objective:** To establish the quality standard of Shengyu capsules and to investigate the acute toxicity of the capsules in mice. **Methods:** Thin layer chromatography was used for simultaneously identification of the main components of alcohol extracts of *Radix Astragali*, *Radix Codonopsis*, *Radix Paeoniae alba* and *Placenta Hominis* in Shengyu capsules. Extractum content of Shengyu capsule was assayed by ethanol extraction method. LD<sub>50</sub> of extractum of Shengyu capsule in mice was calculated with modified Kärber's method. **Results:** All spots were clear and concentrated on the thin layer. The results have good repeatability. The extractum content of Shengyu capsules was more than 16.3%. LD<sub>50</sub> and its confidence interval of Shengyu capsule in mice were 764.8 mg/kg and 682.5 ~ 847.2 mg/kg, respectively. **Conclusion:** The method for determination the quality standard of Shengyu capsule was feasible and precise. The dosage of Shengyu capsule in clinic use was safe.

**KEY WORDS** Shengyu capsule; quality standard; TLC; LD<sub>50</sub>

圣愈胶囊由南京军区福州总医院肿瘤中医科戴西湖主任医师积多年经验精心研制而成。由黄芪、党参、白芍、当归、紫河车、枸杞等八味药材组成。具有益气生血, 补肾填精之功效。主治气血亏虚, 面色无华, 心悸气短, 纳差倦怠, 舌淡脉弱等。临床用于放、化疗引起白细胞减少, 贫血及免疫功能低下者, 并收到了较为理想的临床效果。为有效控制该制剂的质量, 并保证其临床用药的安全可靠, 我们对本品进行了质量标准的研究, 并进行急性毒性试验, 制定了该胶囊中黄芪、党参、白芍及紫河车的薄层色谱定性鉴别以及测定其醇浸出物含量的方法与标准。

### 1 仪器与试药

**1.1 仪器** CQ-500 超声波清洗机(上海跃进医用光学器械厂); 电热恒温干燥箱(上海跃进医疗器械厂); ZF-90 型暗箱式紫外投射仪(上海顾村光电

仪器厂); 电子天平(上海天平仪器厂); 二孔电热恒温水浴锅(厦门向阳五金厂); ZBS-6G 智能崩解试验仪(天津大学无线电厂)。

**1.2 试药** 圣愈胶囊(南京军区福州总医院肿瘤中医科提供); 薄层色谱用硅胶 G(青岛海洋化工有限公司); 黄芪等八味对照药材(经鉴定符合 2000 年版中国药典标准); 黄芪甲苷和芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所); 其余试剂均为分析纯。

### 2 试验方法与结果

#### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 黄芪的薄层色谱法鉴别** 取 20 粒圣愈胶囊内容物, 加甲醇 25 mL 超声提取 30 min, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 移入分液漏斗, 用乙醚提取 2 次, 每次 15 mL, 弃去乙醚液, 再用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次(20, 20, 15, 15 mL), 合并正丁醇液, 用 1% 的氢氧化钠洗涤 2 次, 每次 20 mL, 再用水洗涤 3 次(20, 20, 15 mL), 蒸干正丁醇, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解作为供试品溶液<sup>[1]</sup>。另取黄芪

药材 2g, 按上法制成药材对照液。取阴性样品(不含黄芪)各 0.5g, 按上法制成阴性对照液。取黄芪甲苷对照品, 加甲醇制成 1mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 8 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-水(13:6:2)的下层溶液为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液显色<sup>[2]</sup>, 在 105 $^{\circ}$ C 加热数分钟。供试品色谱中, 在与对照品色谱及药材对照液色谱相应位置上, 显相同蓝紫色斑点, 见图 1, 置紫外灯(310nm)下检视, 该斑点呈橙黄色荧光, 而阴性对照液无此斑点<sup>[3]</sup>。结果见图 1。

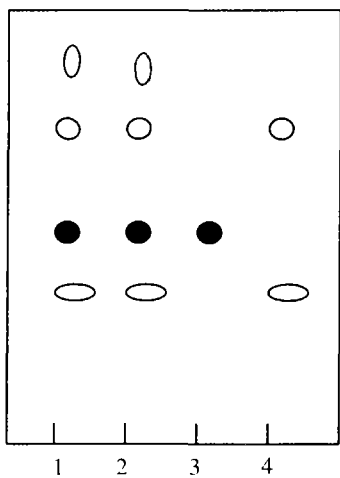


图 1 黄芪的 TLC 图谱

1 - 供试品溶液; 2 - 阳性药材溶液;  
3 - 黄芪甲苷对照品; 4 - 阴性药材溶液

**2.1.2 党参的薄层色谱法鉴别** 取 20 粒圣愈胶囊内容物, 加无水乙醇 25mL 超声提取 40min, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加水 20mL 使溶解, 移入分液漏斗, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20mL, 合并正丁醇液, 加水 30mL 洗涤 1 次, 蒸干正丁醇, 残渣加甲醇 2mL 使溶解作为供试品溶液。另取党参药材 3g, 按上法制成药材对照液。取阴性样品(不含党参)各 0.5g, 按上法制成阴性对照液<sup>[4]</sup>。吸取上述 3 种溶液各 6 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(15:5:2)为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液显色, 105 $^{\circ}$ C 加热数分钟。供试品色谱中, 在与药材对照液色谱相应位置上, 显相同粉红色斑点, 而阴性对照液无此斑点。也可喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液显色, 105 $^{\circ}$ C 加热数分钟, 供试品色谱中, 在与药材对照液色谱相应位置上, 显相同蓝色斑点, 而阴性对照液无此斑点。结果见图 2。

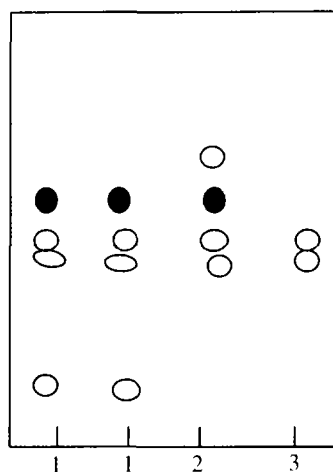


图 2 党参的 TLC 图谱

1 - 供试品溶液; 2 - 阳性药材溶液; 3 - 阴性药材溶液

**2.1.3 白芍的薄层色谱法鉴别**<sup>[5]</sup> 取 20 粒圣愈胶囊内容物, 加 95% 乙醇 25mL 超声提取 10min, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加 95% 乙醇 2mL 使溶解作为供试品溶液。另取白芍药材 2g, 按上法制成药材对照液。取阴性样品(不含白芍)各 0.5g, 按上法制成阴性对照液。取芍药苷对照品, 用 95% 乙醇制成 1mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 4 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 热风吹至显色清晰, 供试品色谱中, 在与对照品色谱及药材对照液相应位置上, 显相同紫褐色斑点, 而阴性对照液无此斑点。结果见图 3。

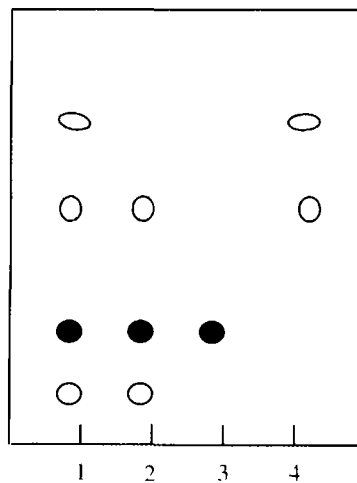


图 3 白芍的 TLC 图谱

1 - 供试品溶液; 2 - 阳性药材溶液;  
3 - 芍药苷对照品溶液; 4 - 阴性药材溶液

**2.1.4 紫河车的薄层色谱法鉴别** 取 10 粒圣愈胶囊内容物, 加氯仿 20mL 冷浸 24h, 滤过, 滤液水浴浓

缩至 2mL, 作为供试品溶液。另取紫河车药材 1g, 按上法制成药材对照液。取阴性样品 (不含紫河车) 各 0.5g, 按上法制成阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 6 $\mu$ 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, 以正己烷 - 醋酸乙酯 (9 : 2) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 20% 高氯酸溶液显色, 105 $^{\circ}$ C 加热数分钟。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同紫红色斑点, 而阴性对照液无此斑点<sup>[6]</sup>。结果见图 4。

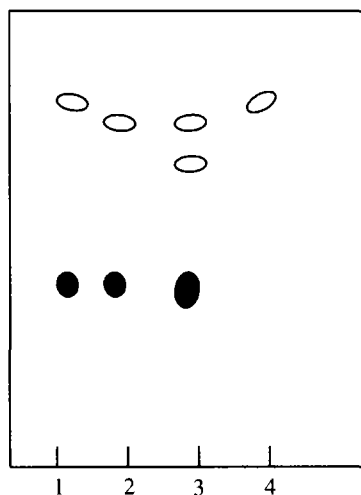


图 4 紫河车的 TLC 图谱

1 - 供试品溶液; 2 - 阳性药材溶液; 3 - 阴性药材溶液

**2.2 醇浸出物含量测定** 参照《中国药典》2000 版第一部附录 XA 中“醇溶性浸出物测定法”中热浸法操作。测定结果见表 1。

表 1 圣愈胶囊醇溶性浸出物测定结果

样品(g)	水份(%)	醇提取物(g)	含量(%)
批号 050105			
4.0053	7.35	0.1578	17.0
4.0029		0.1613	17.4
批号 050326			
4.0107	7.93	0.1592	17.3
4.0081		0.1555	16.9
批号 050411			
3.9920	7.24	0.16271	17.5
4.0076		0.1635	17.6

由表 1 可见, 样品的醇浸出物平均含量为 17.3%, 考虑到生产的因素, 故确定醇浸出物含量不低於 16.3% 为妥。

**2.3 急性毒性试验<sup>[7]</sup>** 为了评价圣愈胶囊制剂的毒性大小, 进一步完善相关药理和毒理学试验, 以便规范和保障临床用药安全、有效。参照有关规定, 对圣愈胶囊的半数致死量 ( $LD_{50}$ ) 进行了测定试验。

**2.3.1 试验材料** 圣愈胶囊 (批号: 050326, 由本院肿瘤中医科提供); 昆明种小鼠, 合格证号: SCXK (闽) 2004 - 0012, 体重 18 ~ 22g, 由梅峰制药厂动物实验科提供, 饲养条件符合规范要求, 给药前禁食 10h, 不禁水。

**2.3.2 试验方法** 取小鼠 40 只, 雌雄各半, 随机分组, 每组 10 只。在预试验的基础上, 取受试药品以蒸馏水按 1 : 0.8 比值, 用等比稀释法配制系列药液备用。取小鼠, 禁食后以 0.2mL/10g 剂量灌胃给药。各小组小鼠给予不同浓度的受试药液。给药后, 自由饮食, 每天上、下午各观察一次, 连续观察 14d, 按试验要求记录各组受试小鼠的异常现象和死亡数, 并采用改良寇氏法计算。

**2.3.3 试验结果** 将相关试验数据代入改良寇氏法计算公式, 求得  $LD_{50}$  为 764.8mg/kg, 其 95% 可信限为 686.4 ~ 851.1mg/kg, 平均可信限为 682.5 ~ 847.2 mg/kg。见表 2:

表 2 圣愈胶囊  $LD_{50}$  测定试验结果

组别	鼠数	剂量 (mg/(kg·d))	Lgd (x)	死亡数 (n)	死亡率 (P)	P <sup>2</sup>
1	10	856.0	2.932	6	0.6	0.36
2	10	684.8	2.836	3	0.3	0.09
3	10	547.8	2.739	1	0.1	0.01
4	10	438.3	2.642	0	0	0

**2.3.4 试验结论** 选用昆明种小鼠, 经灌胃给药, 应用改良寇氏法计算, 测定圣愈胶囊的半数致死量 ( $LD_{50}$ ) 为 764.8mg/kg, 为病人每次正常用药剂量的 35 倍, 其 95% 可信限为 686.4 ~ 851.1mg/kg。

### 3 讨论

**3.1** 黄芪为方中君药, 所以黄芪的薄层鉴别尤为必要。在供试液制备过程中, 首先用乙醚除去脂溶性杂质, 然后通过正丁醇萃取使苷类和水溶性成分分离, 碱液除去其他杂质, 最后用水洗至中性。由于本方成分较多, 相互干扰, 分离欠佳, 经反复筛选, 采用《中国药典》中以氯仿 - 甲醇 - 水 (13 : 6 : 2) 下层液为展开剂进行薄层鉴别。用黄芪的有效成分黄芪甲苷为对照展开, 试验结果表明此鉴别方法重现性好, 特征性强。

**3.2** 党参作为一种多来源, 多品种, 多规格的中药材, 所含化学成分众多。由于受地理环境, 种植方法, 生长状况及加工工艺等方面的变化对药材自身品质, 药材中间体及中成药的质量带来了很大的影响, 党参的化学成分也因此存在显著差异。据现有资料显示, 复方制剂中党参的鉴别方法多采用薄层层析法, 由于

至今尚未得到适当的对照品,则采用对照药材作为对照。参照已有党参多种化学成分的研究资料,得知党参苷为党参的专属成分。因此,供试品溶液的制备过程中,用正丁醇萃取可使皂苷类成分提出和水溶性杂质分离,使供试品溶液得到纯化<sup>[8]</sup>。

**3.3** 在白芍的薄层鉴别中,曾采用10%的硫酸乙醇作为显色剂,但加热后显色不明显,改用5%香草醛硫酸溶液显色后,获得了较为理想的显色效果。另外,由于浓硫酸具有较强的吸水性,应严格控制显色剂用量,以避免薄层板过湿而影响显色效果。

**3.4** 中药材紫河车的来源比较困难,价格较贵,因此对其进行必要的鉴别。本试验所采用方法分离度佳,操作简便,且斑点圆整性好,阴性无干扰,重现性好,是紫河车理想的定性鉴别方法。

**参考文献:**

[1] 赵刚,宋炳生,倪江洪,等. 消脂平片的质量标准研究[J].

南京中医药大学学报(自然科学版),2001,17(6):358.  
 [2] 王晓晶,米红英. 参芪丸的薄层鉴别法[J]. 时珍国医国药, 2003,14(6):352.  
 [3] 霍浩. 舒肝乐片的制备与薄层色谱鉴别[J]. 中国中医药基础医学杂志,2003,9(6):68.  
 [4] 周本杰,吴朝晖,胡莲,等. 抗类风湿丸的定性鉴别研究[J]. 时珍国医国药,2001,12(5):425.  
 [5] 邓志刚. 妇科十味片的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药, 2001,12(5):425.  
 [6] 涂宏海,赵汝海,魏有良,等. 生血胶囊质量标准的研究[J]. 中成药,2003,25(9):708.  
 [7] 陈奇,邓文龙,刘青云,等. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:112.  
 [8] 刘恩荔,秦雪梅. 党参研究进展[J]. 山西医科大学学报, 2002,33(6):567.

收稿日期:2005-07-29

**《药学实践杂志》2005年第6期继续教育试题答题卡**

姓名		科别		职称	
邮编		电话			
工作单位					
▶试题 1	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 2	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 3	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 4	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 5	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 6	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 7	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 8	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 9	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 10	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 11	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 12	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 13	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 14	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 15	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 16	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 17	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○
▶试题 18	A	○ B	○ C	○ D	○ E ○

注:①请将正确的答案用2B铅笔涂黑②答题卡复印有效  
 ③回函地址:上海市国和路325号药学实践杂志编辑部收(200433)