

技术与方法

鸡参芪抗癌颗粒的制备工艺和质量标准研究

李良¹, 吴华锋², 何碧钻², 庞良承², 覃久芸², 童建军², 唐美花², 蒋伟哲², 付书婕²

(1. 广西玉林市第一人民医院, 玉林 537000; 2. 广西医科大学, 南宁 530021)

摘要 **目的:**初步筛选鸡参芪抗癌颗粒的制备工艺,并建立质量标准。**方法:**以制软材情况、颗粒收率、休止角及溶化性为评价指标,对赋形剂种类进行考察,优选制剂成型工艺。采用薄层色谱(TLC)法对鸡血藤、人参、黄芪进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中人参皂苷(Rg1、Re和Rb1)和儿茶素的质量分数。**结果:**辅料为可溶性淀粉、甘露醇,最佳制备工艺为主药与可溶性淀粉和甘露醇比例1:1.5:0.3。结合课题组前期提取工艺研究结果,鸡参芪抗癌颗粒的制备工艺为:处方量药材第1次加水量9倍浸泡80 min,其余两次均加水8倍量,每次煎煮1 h,共提取3次,过滤合并滤液,减压浓缩至相对密度在1.20~1.30,稠膏与辅料(可溶性淀粉:甘露醇=1.5:0.3)按照药辅比为1:1.8的比例混合均匀制软材,制粒,干燥,整粒,即得。TLC斑点清晰、分离良好,阴性无干扰,专属性强;质量检查符合药典规定;结果表明人参皂苷(Rg1、Re和Rb1)和儿茶素质量浓度的线性范围分别为6.96~139.20 μg/mL, 7.51~150.20 μg/mL, 7.35~147.00 μg/mL和5.86~187.52 μg/mL范围内(r 值均>0.99),与峰面积呈良好的线性关系;平均加样回收率分别为102.72%、103.81%、99.66%和106.29%, RSD 分别为1.18%、2.33%、1.58%和1.64%。测得3批样品中人参皂苷(Rg1、Re和Rb1)和儿茶素平均含量分别为446.14 μg/g、475.91 μg/g、559.71 μg/g和50.40 μg/g,本品每1 g含儿茶素量 ≥ 40.32 μg,含人参皂苷(Rg1、Re、Rb1) ≥ 356.91 μg、380.73 μg、447.77 μg。**结论:**该工艺稳定、可行,建立的TLC和HPLC法专属性强、灵敏度高、重复性好,为后续研发和质量控制奠定了基础。

关键词 鸡参芪抗癌颗粒;制备工艺;质量标准;薄层色谱;高效液相法

中图分类号:R283.6 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2025)01-0138-10

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.01.018

Study on the preparation process and quality standard of Ji Shenqi anti-cancer granules

LI Liang¹, WU Huafeng², HE Bizuan², PANG Liangcheng², QIN Jiuyun², TONG Jianjun², TANG Meihua², JIANG Weizhe², FU Shujie². (1. The First People's Hospital of Yulin, Yulin 537000, China; 2. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: To preliminarily screen the preparation process of Ji Shenqi anti-cancer granules (JSQ) and establish the quality standard. **Methods:** The excipient types were examined and the formulation moulding process was preferred using the soft material making situation, particle yield, angle of repose and solubility as evaluation indexes. Thin-layer chromatography (TLC) was used for the qualitative identification of Suberect Spatholobus Stem, ginseng, and astragalus; high performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the mass fractions of ginsenosides (Rg1, Re, and Rb1) and catechins in the preparations. **Results:** The excipients were soluble starch and mannitol, and the best preparation process was that the ratio of main drug to soluble starch and mannitol was 1:1.5:0.3. Combined with the previous research results of the extraction process by the research group, the preparation process of JSQ was as follows: The prescription amount of herbs with 9 times the amount of water was soaked for 80 min for the first time, and the remaining two times were added with 8 times the amount of water; each time was decocted for 1 h; after a total of three extractions, the filtrates were filtered and combined, and then concentrated under reduced pressure to achieve the relative density in the range of 1.20-1.30; the thick paste was then mixed with excipients (soluble starch:mannitol=1.5:0.3) in accordance with

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 82460806);广西自然科学基金资助项目(No. 2020GXNSFBA297042)

[通信作者] 蒋伟哲, E-mail: jiangweizhe6812@163.com; 付书婕, E-mail: 763596726@qq.com

[收稿日期] 2024-12-07

the ratio of drugs and auxiliaries for 1 : 1.8. The mixture was evenly combined to make a soft material, which was then granulated, dried, and granulated again to obtain the final product. The TLC spots were clear, well-separated, negative and non-interfering, with strong specificity; the quality check was in accordance with the provisions of the Pharmacopoeia; the results showed that the linear ranges of the mass concentrations of ginsenosides (Rg1, Re and Rb1) and catechins were 6.96-139.20 $\mu\text{g/mL}$, 7.51-150.20 $\mu\text{g/mL}$, 7.35-147.00 $\mu\text{g/mL}$ and 5.86-187.52 $\mu\text{g/mL}$, respectively (all $r > 0.99$), with good linear relationship with the peak area; the average recoveries were 102.72%, 103.81%, 99.66% and 106.29%, with *RSDs* of 1.18%, 2.33%, 1.58% and 1.64%, respectively. The average contents of ginsenosides and catechins in the three batches of samples were 446.14 $\mu\text{g/g}$, 475.91 $\mu\text{g/g}$, 559.71 $\mu\text{g/g}$ and 50.40 $\mu\text{g/g}$, respectively, and the amount of catechins in this product was not less than 40.32 μg per 1 g, and the amount of ginsenosides (Rg1, Re, and Rb1) was not less than 356.91 μg , 380.73 μg and 447.77 μg . **Conclusion:** The process is stable and feasible, and the established TLC and HPLC methods are exclusive, sensitive and reproducible, laying a foundation for the subsequent research and development and quality control.

Keywords Ji Shenqi anti-cancer granules; preparation process; quality standard; thin-layer chromatography; high performance liquid chromatography

鸡参芪抗癌方是南宁壮要方中医医院的一个经验方,该方主要由鸡血藤、人参、黄芪等药材经加減后组成,具有调节免疫力、抗癌扶正等的作用,在临床上用于治疗免疫功能低下、乳腺癌等癌症的治疗,实践证明有一定疗效,拟将其开发成抗癌颗粒剂,与化疗药合用以更好发挥抗癌作用,减轻患者不良反应,增强药效。方中鸡血藤活血化瘀为君药,黄芪扶阳消肿为臣药,人参扶正祛邪为臣药^[1-2]。研究表明,人参—黄芪和黄芪—鸡血藤药对均是使用比较高频率的药对^[3-4],此方结合前两者,提高免疫力,减毒增效^[5-7]。中医学将肿瘤的病因病机归结为邪毒稽留、湿热蕴结、气滞血瘀,正气虚衰。“虚”、“毒”、“瘀”是该病的3个主要病机环节^[8-9],三药配伍可以提高免疫力和抗癌防癌。

颗粒剂冲服既保存了汤剂吸收快等优点,又方便制剂储存、携带和服用,口感也更好;既解决了传统汤剂煎煮不便、质量不可控的缺点,又提高了用药依从性,从而促进传统中药走向现代化^[10-11]。中药颗粒剂的研发过程往往受提取和成型因素的影响,而成型效果主要取决于药液性质与辅料的匹配程度,需对多种辅料进行考察^[12]。鸡血藤在《中国药典》和各地方标准中尚未收录含量检测方法,配方颗粒标准仅收录了活性成分芒柄花素的质量检测方法但是设备成本高且检测操作繁琐,故其主要有效成分单体化合物的质量检测方法亟需进一步研究^[13],故本实验需建立颗粒中鸡血藤有效成分的含

量测定方法;现代研究表明,鸡血藤中主要含黄酮类、酚酸类、三萜类、木脂素类等化学成分,有效成分较复杂多样^[1];黄酮类成分中主要药效成分有儿茶素、表儿茶素、原儿茶酸、芒柄花素等^[4],各类活性成分之间极性跨度很大,难以分离纯化;其中儿茶素、表儿茶素等黄酮类成分具有抗肿瘤、抗氧化、抗病菌以及保护心脑血管等多种药理作用^[15-16],传统水提工艺能较好地将其提取,故选择儿茶素和表儿茶素作为定性和定量指标。本课题组前期用高效液相技术对鸡参芪抗癌颗粒的提取工艺进行了优化研究,在此基础上,借鉴2020版《中国药典》中的薄层色谱(TLC)鉴别项和人参含量测定项方法,本实验对其成型工艺及质量标准进行研究,以期为医疗机构制剂开发提供数据支持。

1 材料与制备工艺

1.1 仪器

安捷伦 Agilent1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);101-3SB 电热恒温干燥箱(绍兴市苏珀仪器有限公司);ZF-2 三用紫外线分析仪(上海市安亭电子仪器厂);HLD-3002 电子分析天平(杭州友恒称重设备有限公司);KS-500DB 数控超声清洗器(昆山洁力美超声仪器有限公司);HH-2 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);R-1001VN 旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司);

1.2 药物与主要试剂

儿茶素对照品(批号:RP210819,纯度 $\geq 98\%$)、人参皂苷 Rg1(批号:110703-202235,纯度 $\geq 98\%$)、人参皂苷 Re(批号:110754-202129,纯度 $\geq 98\%$)、人参皂苷 Rb1(批号:110704-200420,纯度 $\geq 98\%$)、鸡血藤对照药材(批号:121173-201805)、黄芪对照药材(批号:121462-201705)、人参对照药材(批号:120917-201712),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯,水为娃哈哈纯净水。鸡血藤饮片、人参饮片、黄芪饮片均购自广西玉林利波中药材购销部,经谢阳姣研究员(广西中医药大学)鉴定为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn 的干燥藤茎、五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎、豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根,批号分别为 20220701, 20220603、20220610。可溶性淀粉(天津市北辰方

正试剂厂),甘露醇、无水乳糖、一水乳糖、玉米淀粉、糊精均购自麦克林,均为分析纯。

1.3 提取物的制备

鸡参芪抗癌方的处方质量比为 15 g:9 g:15 g(鸡血藤:参:黄芪),称取处方量药材置于大容量烧杯,第1次加水量9倍并浸泡80 min,其余两次均加水8倍量,每次煎煮1 h,共提取3次,过滤并合并滤液,减压浓缩至相对密度在1.20~1.30。

1.4 成型工艺考察

1.4.1 药物和辅料比例 分别选择玉米淀粉、可溶性淀粉、甘露醇、无水乳糖、一水乳糖、糊精作为辅料,由于干膏粉吸湿性极强,与可溶性淀粉无法成型,浸膏与糊精粘合结块无法成型。结果见表1。由此可知,淀粉—无水乳糖(1:1.5:0.4)和淀粉—甘露醇(1:1.5:0.3)二者的成型性最好,故以淀粉和甘露醇为辅料,三者比例为1:1.5:0.3。

表1 辅料种类和用量考察

辅料	收率%	成型率%	制粒现象和颗粒成型性	休止角/ $^{\circ}$	吸湿性	溶解性
玉米淀粉(1:1.2)	47.88	46.33	粘筛,制软材困难	24.20	2.36%	全部溶解
玉米淀粉(1:1.4)	95.75	69.89	粘筛,制软材困难	22.34	4.60%	全部溶解
可溶性淀粉(1:2)	67.06	95.11	制软材较困难,粘筛,颗粒呈粗长条型	24.20	2.36%	全部溶解
可溶性淀粉(1:2.2)	74.17	95.70	制软材较困难,粘筛,呈粗长条型	22.48	7.80%	全部溶解
糊精(1:2)	-	-	无法过筛和成型	-	-	-
淀粉—无水乳糖(1:2:0.2)	67.39	95.48	制软材良好,易过筛	24.44	0.76%	全部溶解
淀粉—无水乳糖(1:2:0.2)	70.10	96.83	易过筛,制软材良好	22.34	25.85%	轻微浑浊
淀粉—无水乳糖(1:1.5:0.4)	69.20	92.60	易过筛,颗粒松散	20.08	5.95%	全部溶解
淀粉—无水乳糖(1:1.5:0.3)	59.90	89.70	易过筛,颗粒疏松,细粉多	19.43	8.14%	全部溶解
淀粉—无水乳糖(1:1.4:0.3)	61.60	83.80	制软材良好,颗粒粘塞	21.92	7.88%	全部溶解
淀粉—甘露醇(1:2:0.2)	90.45	95.06	易过筛,不容易粘塞,颗粒均匀	24.69	1.43%	全部溶解
淀粉—甘露醇(1:1.5:0.3)	73.67	93.57	易过筛,制软材良好	16.93	9.86%	全部溶解

1.5 制备工艺路线

人参药材粉碎后,取处方量药材加入9倍量水浸泡80 min后,煎煮1 h,第2次和第3次均加入8倍量水,每次煎煮1 h,共3次,合并滤液蒸发浓缩至密度为1.20~1.30的稠膏,与一定比例的可溶性淀粉和甘露醇混合均匀,制软材,制粒,整粒,质量检测,分装,得到颗粒。

1.6 扩大试验

将人参进行适度粉碎后,按“1.4项”下制备工艺

进行3批扩大试验,结果见表2。由此可知,3批扩大试验产品的成品率接近,印证了该制备工艺的可行性及所得成品的稳定性,并符合大生产一般要求。

表2 成型工艺验证结果

批号	成型率/%	流动性(休止角/ $^{\circ}$)	吸湿率/%
202301	93.35	19.65	7.59
202302	91.24	17.88	6.25
202303	94.68	19.03	7.52

2 质量标准研究

2.1 TLC定性鉴别

2.1.1 鸡血藤 供试品溶液的制备:取本品颗粒4 g,研细,加乙醇40 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水10 mL使溶解,用乙酸乙酯10 mL振摇提取,乙酸乙酯液挥干,残渣加甲醇1 mL使溶解,即得。对照药材溶液的制备:取鸡血藤对照药材2 g,制备方法同供试品。取表儿茶素0.2 mg,加1 mL甲醇溶解得对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验^[17],供试品和对照品以及对照药材以及阴性对照溶液在同一硅胶GF254薄层板点好样后,以二氯甲烷—丙酮—甲醇—甲酸(8:1.2:0.3:0.5)为展开剂展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视,随后喷以5%香草醛硫酸溶液为显色剂,经过105℃加热下使显色斑点清晰,在日光灯下可看到鸡血藤供试品溶液与对照品溶液色谱以及对照药材色谱出现在相应位置,在紫外光254 nm下显相同的荧光斑点。取上述4种溶液适量,分别点于低温、高温条件下同一硅胶GF254薄层板上,以考察方法耐用性。

2.1.2 人参 供试品溶液的制备:取本品颗粒4 g,加二氯甲烷40 mL,加热回流1 h,弃去二氯甲烷液,药渣挥干溶剂,加水0.5 mL搅拌湿润,加水饱和正丁醇10 mL,超声处理30 min,吸取上清液加3倍量氨试液,摇匀,放置分层,取上层液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,即得。

对照品溶液的制备:人参皂苷Rg1对照品,加甲醇制成每1 mL含2 mg的混合溶液,即得。对照药材溶液的制备:取人参对照药材1 g,制备方法同供试品。

按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验^[17],吸取上述各溶液,分别点于同一硅胶G薄层板上,以二氯甲烷:乙酸乙酯:甲醇:水(4:8:4.4:2)10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰。将薄层板取出置于日光灯下和紫外光365 nm下观察斑点颜色及位置。由图1可知,溶液分离斑点清晰,专属性强,在日光灯下,供试品色谱

在与对照品色谱以及对照药材溶液都在相应的位置上,斑点都在相应位置上;于紫外光365 nm下都分别显相同颜色的斑点。可得斑点Rf值较大,斑点分离越明显,虽然在阴性对照色谱对应位置也有斑点,但是显色斑点颜色不同,可表明阴性无干扰。取上述4种溶液适量,分别点于低温、高温条件下同一硅胶G薄层板上,以考察方法耐用性。

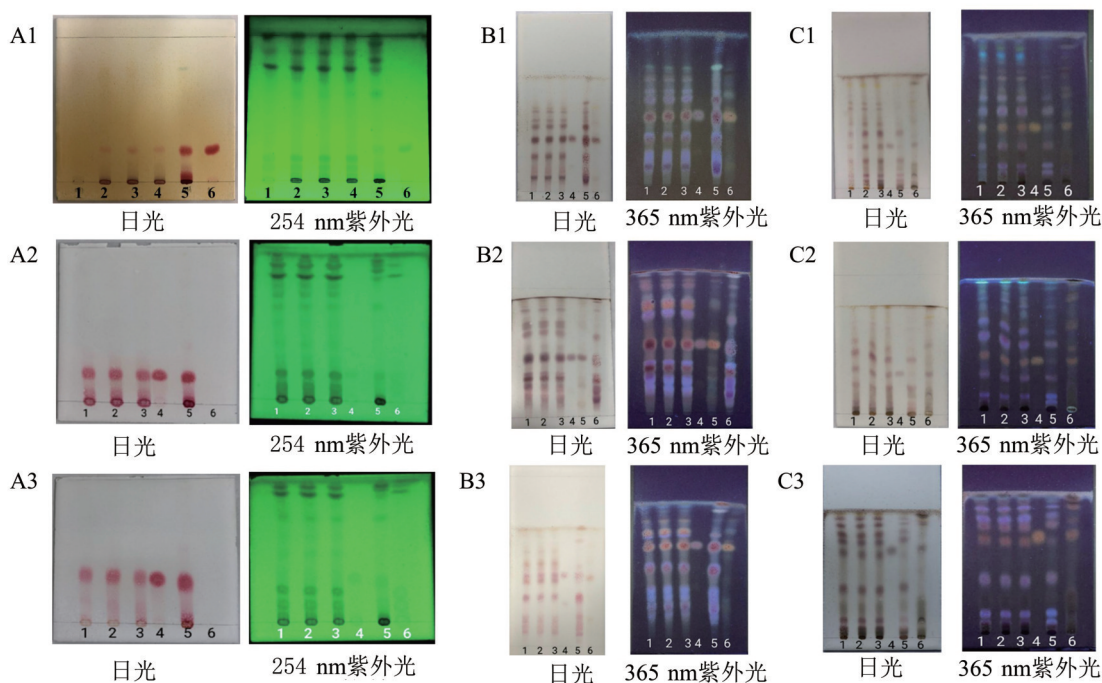
2.1.3 黄芪 供试品溶液的制备:取本品的颗粒约4 g研细(过40目筛),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入80%甲醇溶液50 mL,密塞,称定重量,加热回流1 h,放冷,再称定重量,用含4%浓氨试液的80%甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液25 mL,蒸干,残渣用80%甲醇溶解,转移至2 mL量瓶中,加80%甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

对照药材溶液的制备:取黄芪对照药材2 g,制备方法同供试品溶液制备方法。对照品溶液的制备:取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加80%甲醇制成每1 mL含0.5 mg的溶液,即得。

阴性对照溶液的制备:取缺黄芪药材适量,按确定的制备工艺制成阴性样品颗粒。取缺黄芪阴性样品颗粒约4 g,按上述供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验^[17],吸取上述各溶液适量分别点于同一硅胶G薄层板上,展开,取出,晾干,再喷以10%硫酸乙醇溶液,再在105℃下加热至斑点显色清晰。将薄层板取出置于日光灯下和紫外光365 nm下观察斑点颜色及位置。由图1可得,溶液分离斑点清晰,专属性强,在日光灯下,供试品色谱在与对照品色谱都在相应的位置上,于日光灯下均显相同的棕褐色斑点;于紫外光365 nm下都显相同的橙黄色荧光斑点。可得黄色斑点Rf值较大,斑点分离越开,阴性对照溶液都无对应斑点,表明阴性无干扰。取上述4种溶液适量,分别点于低温、高温条件下同一硅胶G薄层板上,以考察方法耐用性。

2.2 质量检查

按2020年版《中国药典》规定,进行水分、粒度、溶化性检查,见表3,由结果可知均符合相关要求。



A1、B1、C1:常温下展开;A2、B2、C2:4 °C下展开;A3、B3、C3:40 °C下展开。A1:1为缺鸡血藤阴性对照溶液,2~4为鸡参芪抗癌颗粒供试品(批号为202301、202302、202303);5为鸡血藤对照药材,6为表儿茶素。A2、A3:1~3为供试品,4为表儿茶素,5为鸡血藤对照药材,6为缺鸡血藤阴性对照溶液;B1、B3:1~3为供试品,4为人参皂苷Rg1,5为人参对照药材,6为缺人参阴性对照溶液;B2:1~3为供试品,4为参皂苷Rg1,5为缺人参阴性对照溶液,6为人参对照药材;C1、C2、C3:1~3为供试品,4为黄芪甲苷,5为缺黄芪阴性对照,6为黄芪对照药材。

图1 鸡血藤、人参、黄芪的TLC图

表3 颗粒质量检查结果

批号	粒度(<15%)	水分/%	溶解性
202301	6.65	7.40	全部溶解,轻微浑浊
202302	8.76	8.57	全部溶解,轻微浑浊
202303	5.32	8.26	全部溶解,轻微浑浊

2.3 人参皂苷含量测定

2.3.1 色谱条件 日本岛津 Inersil-ODS-2 C18 反相色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)–水(B),梯度洗脱,程序见表4。体积流量1.0 mL/min;柱温 30 °C;检测波长 203 nm;进样量 20 μL。

2.3.2 对照品溶液、供试品溶液以及阴性溶液的制备 取人参皂苷Rg1、人参皂苷Re、人参皂苷Rb1对照品适量,分别加甲醇制成每1 mL含27.84 μg、30.04 μg、29.45 μg的混合溶液,得对照品溶液。取适量鸡参芪颗粒,混匀,研细,取2 g,精密称定,加入40 mL水饱和正丁醇浸泡1 h后超声1 h,取上清转移至分液漏斗,加入等量正丁醇饱和的稀氨水洗脱

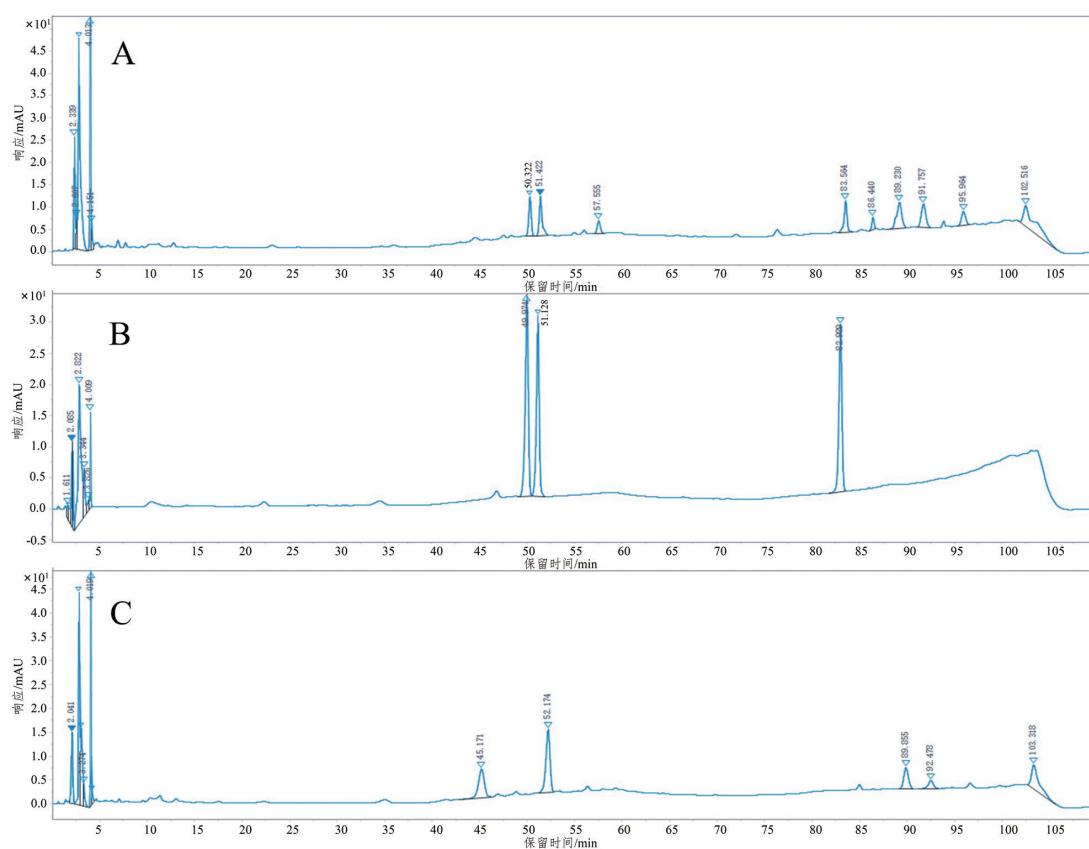
2次,取正丁醇层20 mL,蒸干,加入适量甲醇溶解并转移至10 mL容量瓶定容,摇匀,即得供试品溶液。按处方制备不含人参的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备,即得人参阴性样品溶液。

表4 梯度洗脱

时间/min	流动相A	流动相B
0~35	19	81
35~55	19~29	81~71
55~70	29	71
70~100	29~40	71~60
100~102	40~19	60~81
102~110	19	81

2.3.3 专属性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液适量,在“2.3.1项”色谱条件下进样测定,结果见图2。由此可知,分离度符合要求,阴性无干扰。

2.3.4 线性关系考察 分别取人参皂苷Rg1、Re、Rb1对照品6.96 mg、7.51 mg、7.35 mg,混合,用甲醇



A: 供试品; B: 对照品; C: 人参阴性对照; 1: 人参皂苷 Rg1 峰 (RT 50.322 min); 2: 人参皂苷 Re 峰 (RT 51.422 min); 3: 人参皂苷 Rb1 峰 (RT 83.564 min)。

图2 鸡参芪颗粒人参皂苷色谱图

溶解,于 50 mL 容量瓶定容,摇匀,得到浓度分别为 139.2 $\mu\text{g/mL}$ 、150.2 $\mu\text{g/mL}$ 、147.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液,备用。分别精密吸取上述制备的溶液 0.5 mL、1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL、10 mL 置于 10 mL 容量瓶中加甲醇定容,各稀释后的浓度见表 5。

表5 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/ ($\mu\text{g/mL}$)
人参皂苷 Rg1	$Y_1=6.3093x+1.0842$	0.9979	6.96~139.2
人参皂苷 Re	$Y_2=4.6381x+4.4896$	0.9953	7.51~150.2
人参皂苷 Rb1	$Y_3=2.7166x+5.9751$	0.9974	7.35~147.0

2.3.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液,于 0 h、2 h、4 h、8 h、14 h、24 h 在“2.3.1 项”色谱条件下进样测定,测得人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 峰面积 RSD 分别为 0.73%、0.73%、1.19%,表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 20 μL ,在“2.3.1 项”色谱条件下进样测定 6 次,测得人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 峰面积 RSD 分别为 1.27%、1.36%、1.45%,表明仪器精密度良好。

2.3.7 重复性试验 精密称取同一批本品约 2.0 g,共 6 份,按“2.3.2 项”方法制备供试品溶液,在“2.3.1 项”色谱条件下进样测定,测得人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 峰面积 RSD 分别为 0.67%、2.60%、1.01%,表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率 加样回收供试品的制备:取已知有效成分含量的鸡参芪颗粒适量,研细,采用加样回收法,取制得的鸡参芪颗粒样品约 1 g,平行 6 份,置具塞锥形瓶中加入人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 混合对照品溶液,按供试品溶液的制备方法,测定的人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 的峰面积,计算三者的含量,计算回收率,见表 6。

表6 各成分加样回收率试验结果

成分	称样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	n=6
						平均回收率/% (RSD/%)
人参皂苷 Rg1	1.000 8	0.158 6	0.287 2	0.454 8	103.16	102.72(1.18)
	1.001 4	0.166 2	0.287 2	0.455 6	100.76	
	1.001 6	0.151 6	0.287 2	0.449 7	103.80	
	1.012 2	0.197 9	0.287 2	0.491 8	102.32	
	1.014 1	0.194 2	0.287 2	0.486 9	101.90	
	1.001 1	0.155 7	0.287 2	0.455 4	104.38	
人参皂苷 Re	1.000 8	0.231 2	0.285 6	0.476 1	106.17	103.81(2.33)
	1.001 4	0.224 2	0.285 6	0.509 8	103.92	
	1.001 6	0.318 4	0.285 6	0.611 8	102.74	
	1.012 2	0.220 1	0.285 6	0.513 6	102.75	
	1.014 1	0.172 2	0.285 6	0.458 9	100.38	
	1.001 1	0.170 7	0.285 6	0.476 1	106.91	
人参皂苷 Rb1	1.000 8	0.390 6	0.296 8	0.688 1	100.23	99.66(1.58)
	1.001 4	0.348 4	0.296 8	0.647 2	100.68	
	1.001 6	0.356 6	0.296 8	0.646 3	97.62	
	1.012 2	0.402 7	0.296 8	0.695 4	98.63	
	1.014 1	0.372 0	0.296 8	0.674 6	101.93	
	1.001 1	0.382 4	0.296 8	0.675 8	98.86	

2.4 儿茶素含量测定

2.4.1 色谱条件 日本岛津 Inersil-ODS-2 C18 反相色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈(A)—0.4%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱^[18], 程序见表7; 体积流量1.0 mL/min, 柱温30 °C, 检测波长278 nm, 进样量20 μL。

表7 梯度洗脱

时间/min	流动相A	流动相B
0~20	10~13	90~87
20~30	13~15	87~85
30~32	15~10	85~90
32~40	10	90

2.4.2 对照品溶液、供试品溶液以及阴性溶液的制备 取儿茶素对照品适量, 分别加甲醇制成每1 mL含155.044 μg的溶液, 得对照品溶液。取适量颗粒研碎, 过筛, 精密量取2 g, 加入25 mL 80%甲醇超声1 h, 过滤, 滤液蒸干, 10 mL水溶解后加入乙酸乙酯萃取3次, 每次15 mL, 合并乙酸乙酯层萃取液, 精

密度取35 mL上清液, 蒸干, 定容, 摇匀, 即得供试品溶液。按处方制备不含鸡血藤的阴性样品, 按“2.1.1项”方法制备, 即得鸡血藤阴性样品溶液。

2.4.3 专属性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液适量, 在“2.4.1项”色谱条件下进样测定, 结果见图3。由此可知, 分离度符合要求, 阴性无干扰。

2.4.4 线性关系考察 取儿茶素对照品5.86 mg, 用适量甲醇溶解, 于10 mL容量瓶定容, 摇匀, 得到浓度为0.586 mg/mL的标准溶液, 备用。分别精密吸取上述制备的标准溶液0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、3.2 mL置于10 mL容量瓶中加甲醇定容。以溶液质量浓度为横坐标(x), 峰面积为纵坐标(Y)进行回归, $Y=7.415 1x-8.545 8$ ($r=0.999 9$), 结果表明儿茶素进样量在5.86~187.52 μg/mL, 与峰面积呈良好的线性关系。

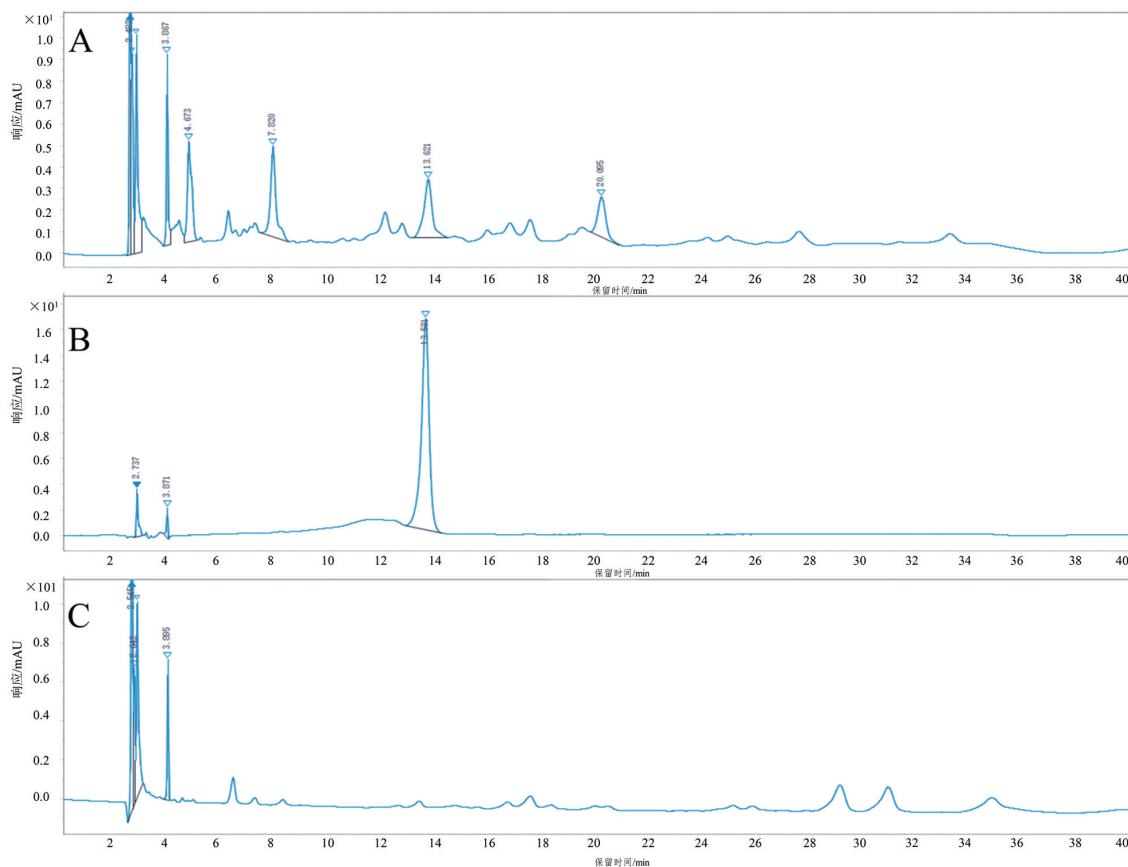
2.4.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 于0 h、2 h、4 h、8 h、14 h、24 h在“2.4.1项”色谱条件下进样测定, 测得儿茶素峰面积RSD为1.67%, 表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 20 μL , 在“2.4.1 项”色谱条件下进样测定 6 次, 测得儿茶素峰面积 RSD 分别为 0.36%, 表明仪器精密度良好。

2.4.7 重复性试验 精密称取同一批本品约 2.0 g, 共 6 份, 按“2.4.2 项”方法制备供试品溶液, 在“2.4.1 项”色谱条件下进样测定, 测得儿茶素峰面积 RSD%

为 1.80%, 表明该方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率 称取 6 份已知含量的同一批颗粒约 1 g, 精密称定, 再精密加入适量儿茶素对照品, 按照上述方法制备供试品溶液, 进样分析, 计算回收率, 见表 8。



A: 供试品; B: 儿茶素对照品; C: 鸡血藤阴性对照; 1: 儿茶素特征峰 (RT 13.621 min)

图3 鸡参芪颗粒的儿茶素色谱图

表8 儿茶素加样回收率

称样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/% (RSD/%)
1.005 1	0.042 0	0.054 7	0.098 8	103.74	106.29(1.64)
1.007 7	0.041 6	0.054 7	0.102 4	108.21	
1.005 9	0.044 3	0.054 7	0.103 4	108.15	
1.003 6	0.028 0	0.072 9	0.105 6	106.37	
1.006 2	0.030 7	0.072 9	0.108 1	106.24	
1.002 4	0.034 8	0.072 9	0.111 4	105.06	

$n=6$

2.5 扩大试验产品含量测定

取扩大试验产品3批,每批2 g,按上述方法制备和检测,并计算含量,见表9,可知均符合2020年版《中国药典》标准。

表9 各成分含量测定结果

批号	μg/g, n=3			
	儿茶素含量	人参皂苷 Rg1 含量	人参皂苷 Re 含量	人参皂苷 Rb1 含量
202301	53.96	404.85	441.80	503.38
202302	53.44	456.93	480.06	566.78
202303	43.79	476.65	505.87	608.97

3 讨论

本项目考察了干膏粉与辅料混合后制粒的情况,结果显示当采用可溶性淀粉为辅料时制粒困难且用量较大,尽管考察了润湿剂乙醇的浓度。采用干膏制粒方式一般来说可以减少辅料的用量,但是需要将稠膏干燥成干膏;干燥过程中能源损耗大、干燥时间长,喷雾干燥方式干膏粘壁多损失大,而采用稠浸膏制粒可减少粉尘污染、能源损耗、无需添加润湿剂。综合预实验考虑,结合本方所得干膏粉极易吸潮、出膏率低等特点,选择有具有一定密度的稠膏与辅料混合后进行制粒。

预实验发现表儿茶素的含量测定方法不可行,因此并未将表儿茶素纳入鸡参芪抗癌颗粒中的含量检测方法,后期将把芒柄花素含量测定纳入质控;预实验中儿茶素含量测定方法考察了流动相,结果乙腈—0.4%磷酸时出峰时间合适,分离度和峰形均较好,故选择其为最佳流动相。在对鸡参芪抗癌颗粒进行含量检测时,采用纯甲醇超声提取颗粒无法充分将有效成分从颗粒中提取出来,即使加大溶剂量提取率亦很低,考虑到主要原因是甲醇无法充分湿润颗粒,药膏紧紧吸附于辅料上,故考虑加水稀释使其充分湿润,因此将提取溶剂甲醇改为80%甲醇和水饱和正丁醇提取,分别用于儿茶素和人参皂苷的提取。此外还对人参皂苷提取方法中氨水洗涤次数进行考察,发现洗涤2次已经能够去除很多干扰杂质,为节省溶剂和简化步骤考虑确定洗涤次数2次即可。

TLC对照品的选择:在第1次点薄层时发现儿茶素与表儿茶素的比移值非常接近,甚至重合,

2020版《中国药典》也未收录鸡血藤的对照品以及含量测定方法,而表儿茶素是该药材重要的有效成分,且其含量较高,故选择表儿茶素作为对照。此外,本研究还尝试摸索该方的有效成分原儿茶酸薄层鉴别方法,但由于其含量极低故不适宜用于该薄层对照。经预实验发现,Rg1与Re极性相似,不易分离,同时Rb1在点薄层展开后出现两个斑点,即除主斑点外,另有颜色较浅的杂质峰,经查阅相关资料推测其原因可能为该成分不稳定降解所致。二氯甲烷虽然沸点较三氯甲烷低,但混合溶剂可提高其沸点,二氯甲烷为非易制毒化学品,易获取,毒性较低,可用于定性。

本实验确定了鸡参芪抗癌颗粒的制备工艺,并进行3批扩大试验,发现该工艺稳定性良好。同时,建立了鸡参芪抗癌颗粒质量标准,发现TLC法能清晰分辨出各药材特征斑点,而HPLC法简便快速,重复性好,结果准确可靠,可为今后该制剂工业化生产及医疗机构制剂申报提供理论依据。

参考文献:

- [1] 中医药管理局《中华本草》编委会编. 中华本草 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1999.
- [2] 李雪, 时圣明, 赵余庆. 人参及其皂苷和人参方剂防治病毒性疾病的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2379-2389.
- [3] 高志杰, 朱彤彤, 牛新茹, 等. 鸡血藤化学成分及药理活性研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(4): 67-74.
- [4] 宁娜, 韩建军, 李广平, 等. 鸡血藤活性成分提取的研究进展 [J]. 山东化工, 2021, 50(12): 40-41.
- [5] 杨海, 耿传信, 赵峡, 等. 解毒化痰中药组方对免疫低下模型小鼠免疫功能的影响 [J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(1): 157-161.
- [6] 邢金月, 杨涵童, 韩莲花, 等. 人参及其药对的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(5): 176-179.
- [7] 张晓丽, 张宁苏, 李夏平. 中药治疗化疗后白细胞减少症的用药规律 [J]. 中医临床研究, 2022, 14(31): 49-53.
- [8] 温丹婷, 周慧萍. 基于癌毒理论对肿瘤微环境的中医认识 [J]. 实用医学杂志, 2023, 39(19): 2556-2560.
- [9] 张董晓, 付娜, 黄巧, 等. 赵炳南“四藤”组合组方思路在乳腺疾病中的应用与发展 [J]. 中医杂志, 2021, 62(4): 292-295.

- [10] 彭志荣,王旭易,欧阳威,等. 经典名方沙参麦冬汤颗粒制备工艺及质量标准研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44 (7): 1181-1192.
- [11] 邹吉利,盛 碧,陈永刚,等. 回乳抑增颗粒回流提取工艺的优化[J]. 中成药,2019,41(6):1219-1222.
- [12] 孙立霞,申向荣,赵晓霞,等. 中药口服制剂中辅料应用的常见问题 [J]. 中成药, 2021, 43 (11): 3129-3132.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [14] 杜憬生,吴立群,马鸿雁. 一测多评法测定鸡血藤中4种黄酮成分含量 [J]. 中药材, 2017, 40 (4): 881-883.
- [15] 邓家刚,梁 宁,李学坚,等. 鸡血藤总黄酮对血虚小鼠 IL-3、EPO 影响的实验研究 [J]. 中国药物应用与监测, 2007(6): 21-22.
- [16] 何梦杰,刘莹莹,任瑞华,等. 益母草与鸡血藤及其配伍的抗氧化活性比较[J]. 药学研究,2021,40(1):6-8, 28.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:59.
- [18] 李 莹. 中药鸡血藤的化学成分和质量控制方法研究 [D]. 沈阳:沈阳药科大学,2009.

本文引用格式:

李 良,吴华锋,何碧钻,等. 鸡参芪抗癌颗粒的制备工艺和质量标准研究[J]. 广西医科大学学报, 2025, 42(1): 138-147.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.01.018
LI L, WU H F, HE B Z, et al. Study on the preparation process and quality standard of Ji Shenqi anti-cancer granules [J].Journal of Guangxi medical university,2025,42(1): 138-147.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.01.018