

◇ 药物分析 ◇

参芪首乌颗粒质量标准研究

胡翔

(上海众胜医药科技有限公司,上海 201203)

摘要:目的 建立参芪首乌颗粒的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法对黄芪进行定性鉴别;采用高效液相色谱法对制何首乌进行定量测定,色谱条件为 Kromasil C₁₈ 色谱柱,流动相为乙腈-水(20:80);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长为 320 nm。**结果** 在选定的薄层色谱条件下,黄芪的薄层图谱清晰,分离度好。制何首乌含量测定的线性范围为 67.5 ~ 675.0 mg·L⁻¹ ($r = 0.999\ 8$),样品平均加样回收率($n = 6$)为 99.7%,RSD 为 1.47%。**结论** 该法结果准确,重现性好,可用于参芪首乌颗粒的质量控制。

关键词:参芪首乌颗粒;质量标准;定性鉴别;含量测定

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.05.007

Study on the quality standard of Shenqishouwu granules

HU Xiang

(Shanghai Zhongsheng Pharm-tech Co., Ltd, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To establish the quality standards of Shenqishouwu granules. **Methods** The radix milkvetch were identified by TLC. The content of radix polygoni multiflori preparata was determined by HPLC with Kromasil C₁₈ chromatographic column, and a mobile phase consisting of acetonitrile-water (20:80). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was 320 nm. **Results** The radix milkvetch were identified successfully by TLC. The linear range of determination was 67.5 ~ 675.0 mg·L⁻¹ ($r = 0.999\ 8$). The average recovery rate was 99.7% ($n = 6$), and RSD was 1.47%. **Conclusions** The method is accurate and reproducible, and can be used for quality control of Shenqishouwu granule.

Keywords: Shenqishouwu granule; quality standard; qualitative identification; content determination

参芪首乌颗粒是在参芪首乌补汁的基础上改剂型而得,参芪首乌补汁由党参、黄芪、制何首乌、黄精四味组成,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第四册》,标准号为:WS3-B-0762-91。其功效为补气养血,益肝肾。用于气血不足,肝肾亏损贫血,神经衰弱,产后血亏。颗粒剂同糖浆剂相比,分装剂量准确,质量更稳定,其生产、运输、携带、储存更方便,因此比糖浆剂更受患者的欢迎。

原参芪首乌补汁的标准非常简单^[1],没有任何药材的薄层鉴别和含量测定,非常不利于药品的质量控制。质量控制不好,药品的疗效就得不到保证。因此我们在原标准的基础上大幅度地提高了质量标准,增加了黄芪药材的薄层鉴别和 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量测定方法。和原标准相比,更能充分有效地保证产品的质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪[安捷伦

科技(中国)有限公司,北京];DAD 紫外检测器。

1.2 试药 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(以下简称为葡萄糖苷)对照品(批号:110844-201109)、黄芪甲苷对照品(批号:110781-201314)购自中国食品药品检定研究院;参芪首乌颗粒(自制,批号:201511101、20151102、20151103)。乙腈为色谱纯;其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

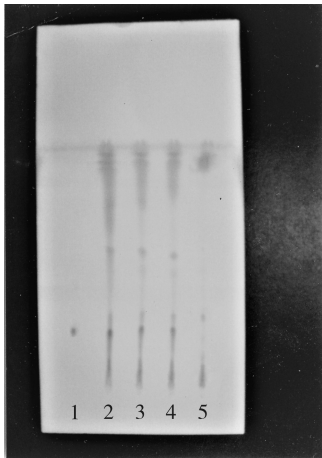
2.1 黄芪薄层色谱鉴别 供试品溶液:取本品适量,称取 5 g,加水 150 mL 溶解,然后加水饱和的正丁醇溶液提取,共 2 次,每次 30 mL,合并正丁醇液,用浓度为 1% 的氢氧化钠溶液洗涤,共 2 次,每次 20 mL,弃去碱水层,再用正丁醇饱和的水洗涤有机层,洗至中性后弃去水层,取有机层溶液置水浴上蒸干,加甲醇 0.5 mL 溶解蒸干后的残渣,作为供试品溶液。

对照品溶液:取黄芪甲苷对照品若干,加甲醇制成 1 mL 含 1 mg 的溶液,即得。

阴性样品溶液:按处方量称取缺黄芪的其他药

味,制成阴性样品,按上述供试品溶液的制备方法制备。

试验方法:采用薄层色谱法(中国药典 2015 年版四部通则 0502)试验,各取 10 μL 上述三种溶液,点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为三氯甲烷-甲醇-水(7:3:1)的下层溶液,在展缸里展开后取出,喷硫酸乙醇溶液(10 $\rightarrow$ 100),在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。在对照品色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的斑点,而阴性样品色谱无斑点,表明阴性无干扰(图 1)。



注:1. 黄芩甲苷对照品;2~4. 201511101、201511102、201511103 三批样品;5. 阴性对照。

图 1 参芪首乌颗粒中黄芩的薄层色谱鉴别

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(20:80);流速:1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$;检测波长:320 nm;进样量:10 μL 。理论板数按葡萄糖苷峰计算应不低于 3 000,且葡萄糖苷与相邻峰的分度应大于 2.0。

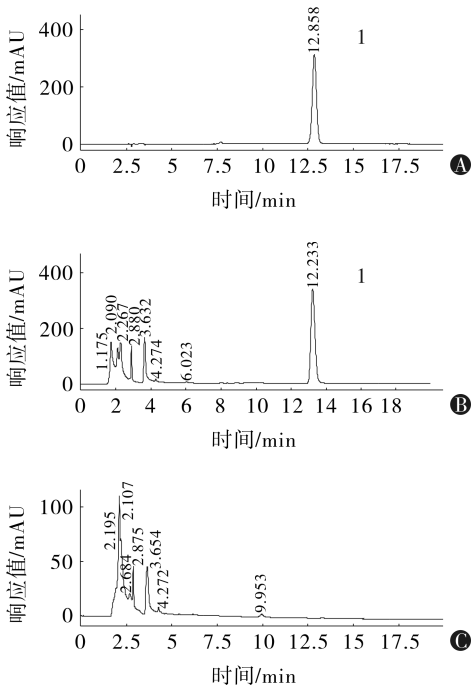
2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取葡萄糖苷对照品适量,加稀乙醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取装量差异下的本品,研细,取约 2 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入稀乙醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,摇匀,取上清液滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 按参芪首乌颗粒处方及制法制备不含制何首乌的阴性样品,按上述供试品溶液的制备方法,即得。

2.2.5 系统适应性试验 精密吸取上述三种溶液

各 10 μL ,按上述色谱条件下进样,记录色谱图,见图 2。结果表明,该色谱条件下,葡萄糖苷峰与其他峰分离良好,峰形对称,且阴性样品无干扰,理论板数按葡萄糖苷峰计算不低于 3 000,且葡萄糖苷峰与相邻峰的分度大于 2.0。表明本方法具有良好的专属性。HPLC 图谱见图 2。



注:A. 对照品;B. 样品;C. 缺制何首乌阴性对照样品;1:葡萄糖苷。

图 2 参芪首乌颗粒的高效液相色谱图

2.2.6 线性关系考察 精密称取葡萄糖苷对照品适量,加稀乙醇制成每 1 mL 含葡萄糖苷 0.675 mg 的对照溶液,作为线性储备液。分别精密量取线性储备液 0.5、1、2、3、5 mL 置 5 mL 量瓶中,用稀乙醇稀释成系列对照品溶液,进样,量取色谱峰峰面积。将峰面积 A 与相应的浓度 C 进行线性回归处理,回归方程为: $A = 26.33C - 198.28$ ($r = 0.9998$),线性范围为 67.5 ~ 675.0 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 。

2.2.7 精密度试验 取对照品溶液(每 1 mL 含 0.2 mg)重复测定 6 次,结果表明 6 次测定峰面积的 RSD 为 0.78%,表明该方法的精密度良好。

2.2.8 重复性试验 按含量测定方法,取同一批样品(批号:20151101)进行多次含量测定,结果样品中葡萄糖苷含量的 RSD 为 0.20%,表明重现性良好。

2.2.9 溶液稳定性试验 按含量测定方法,取同一批参芪首乌颗粒样品(批号:20151101),分别在

表1 回收率试验结果(n=6)

样品量/g	添加前测定量/mg	加入对照品量/mg	添加后测定量/mg	回收量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1.0238	2.703	2.88	5.586	2.883	100.1	99.7	1.47
0.9645	2.546	2.81	5.397	2.851	101.5		
1.1537	3.046	2.94	5.968	2.922	99.4		
1.0672	2.817	2.90	5.654	2.837	97.8		
0.9358	2.471	2.75	5.245	2.774	100.9		
1.1677	3.083	3.69	6.708	3.625	98.2		

0、2、4、6、8、12 h 依次测定其中葡萄糖苷的含量,测得峰面积的 RSD 结果为 0.47%。表明在 12 h 内,参芪首乌颗粒的样品溶液是稳定的。

2.2.10 回收率试验 取已测含量的参芪首乌颗粒样品(批号:20151101)6 份,每份约 1 g,分别加入精密称定的对照品,按照“2.2.3”项下方法处理,依上述色谱条件测定其中葡萄糖苷的含量,并分别计算回收率,结果见表 1。

2.2.11 样品测定 取本品 10 批样品,按上述色谱条件,测定样品中葡萄糖苷的含量,结果见表 2。

表2 样品含量测定结果(n=10)

批号	含量(mg/袋)	批号	含量(mg/袋)
20151001	12.7	20151006	13.0
20151002	13.5	20151007	12.7
20151003	12.9	20151101	13.3
20151004	13.2	20151102	13.1
20151005	13.8	20151103	13.6

3 讨论

3.1 薄层鉴别样品处理方法研究 方中黄芪药材的薄层色谱鉴别参考《中国药典》2015 年版一部黄芪药材^[7]的薄层色谱鉴别方法,并进行了改进。通过比较药典中使用的用中性氧化铝柱洗脱的方法和直接加水溶解样品的方法,结果表明无需经过柱洗脱,薄层色谱即可达到良好的分离效果,从而简化了样品的处理方法。

3.2 检测波长的选择 经对对照品溶液进行紫外扫描,发现在 320 nm 处有最大吸收峰,此结果与《中国药典》2015 年版一部制何首乌的含量测定方法和有关文献报道相吻合^[2-5],因此选用 320 nm 为

检测波长。

3.3 流动相的选择 本实验参照《中国药典》中何首乌药材的含量测定方法和有关文献报道^[3-6],在方法研究过程中,流动相比对了乙腈-水(18:82)、乙腈-水(20:80)及乙腈-水(25:75),结果显示,采用乙腈-水(20:80)为流动相,系统分离效果较好,故选择本系统为流动相。

在该条件下,葡萄糖苷与其他峰分离良好,峰形对称,且阴性样品无干扰,符合试验要求。

3.4 供试品溶液制备方法的考察 分别以稀乙醇溶液、乙醇、80% 乙醇溶液超声提取来处理样品,结果发现葡萄糖苷在稀乙醇溶液中提取完全,分离效果好。同时试验中对样品的提取时间也进行了考察,最终确定超声时间为 30 min。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂 保护第一分册[M]. 1996.

[2] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:175.

[3] 程合理,李文琪. HPLC 法测定参竹精胶囊中 2,3,5,4,-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量[J]. 安徽医药,2009,13(6):606-607.

[4] 王庆,薛天乐,叶敏. 制何首乌颗粒的质量标准研究[J]. 中国民族民间医药,2014,23(8):27-28,30.

[5] 盛静. HPLC 测定血脂灵片中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量[J]. 中成药,2004,26(7):94-95.

[6] 黄园,陈晓梁,梁霞,等. HPLC 法测定参芪首乌补汁中 2,3,5,44'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量[J]. 广西科学,2013,20(4):282-284.

[7] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:302.

(收稿日期:2017-06-20,修回日期:2017-07-27)