

# 大活络丸的质量标准研究

王欣美<sup>1\*</sup>, 王枚博<sup>1</sup>, 吴赵云<sup>1</sup>, 郝征伟<sup>1</sup>, 崔亚君<sup>2</sup>, 王柯<sup>1</sup>, 季申<sup>1</sup>

(1 上海市食品药品检验所, 上海 201210; 2. 上海中医药大学, 上海 201210)

**[摘要]** 目的: 提高大活络丸的质量标准。方法: 采用显微鉴别法对方中 12 味药进行鉴别, 采用薄层色谱法鉴别当归、木香、甘草, 采用气相色谱法鉴别冰片, HPLC 测定何首乌中的二苯乙烯苷的含量。结果: 显微鉴别特征明显; 薄层色谱特征斑点清晰, 气相色谱图呈现与对照品保留时间相同的色谱峰, 阴性对照无干扰。二苯乙烯苷在 20.68~2.068 ng 呈良好的线性关系 ( $r=0.9999$ ), 平均回收率 97.9%, RSD 1.3%。结论: 方法专属性强, 重复性好, 结果可靠, 能够有效控制大活络丸的质量, 为大活络丸的质量标准完善提供依据和参考。

**[关键词]** 大活络丸; 质量标准; 显微鉴别; 薄层色谱鉴别; 气相色谱鉴别; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0145-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013140145

## Study on the Quality Standard of Dahuoluo Wan

WANG Xin-mei<sup>1\*</sup>, WANG Mei-bo<sup>1</sup>, WU Zhao-yun<sup>1</sup>, JIA Zheng-wei<sup>1</sup>, CUI Ya-jun<sup>2</sup>, WANG Ke<sup>1</sup>, JI Shen<sup>1</sup>

(1. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201210, China;

2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201210, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality standard of Dahuoluo Wan. **Method:** Twelve crude drugs in the prescription were identified by microscope. Radix Angelicae Sinensis, Radix Aucklandiae and Radix et Rhizoma Glycyrrhizae were identified by TLC. Borneolum Syntheticum was identified by GC. Stilbene glucoside was analyzed by HPLC. **Result:** The microscopic features were easy to find; the spots in TLC chromatograph were clear and the GC spectrum showed the peak correspond to the standard. The negative samples showed no interference. The linear range of stilbene glucoside was 20.68-2.068 ng ( $r=0.9999$ ). The average recovery was 97.9%, RSD 1.3%. **Conclusion:** The methods are specific, reproducible and reliable, which can be used for the quality control of Dahuoluo Wan.

**[Key words]** Dahuoluo Wan; quality standard; microscopical identification; TLC; GC; HPLC

大活络丸是由 48 味药材制成的大蜜丸, 具有祛风止痛、除湿豁痰、舒筋活络的功效, 适用于中风痰厥引起的瘫痪、足萎痹痛、筋脉拘急、腰腿疼痛及跌打损伤、行走不便、胸痹等症。其处方来源于明代《经验良方》, 清代由同仁堂改进配方及剂量, 生产至今有 300 余年。现行标准收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第 6 册, 质量标准较为简单。方中甘草、何首乌、红参、当归为君药, 全部药味均为原

粉投料。为了提高大活络丸质量标准, 本研究采用显微鉴别法对方中 12 味中药(麻黄、大黄、丁香、僵蚕、青皮、骨碎补、豆蔻、黄芩、香附、全蝎、黄连和水牛角浓缩粉)进行了鉴别, 建立了当归、木香、甘草的薄层鉴别方法及冰片的气相色谱鉴别方法, 建立了高效液相色谱法测定何首乌中二苯乙烯苷的含量测定。

### 1 材料

日本奥林巴斯 OLYMPUS CHB 显微镜, OLYMPUS BH-2 型显微摄影仪, CARLZEISS 显微量尺, 美国安捷伦 Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器(DAD), 美国安捷伦 Agilent 6890 型气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器(FID)。

**[收稿日期]** 20120312(007)

**[通讯作者]** \* 王欣美, 硕士, 主管药师, 从事中药检验及质量控制方法研究, Tel: 021-38839900-26604, E-mail: wangxinmei@smda.gov.cn

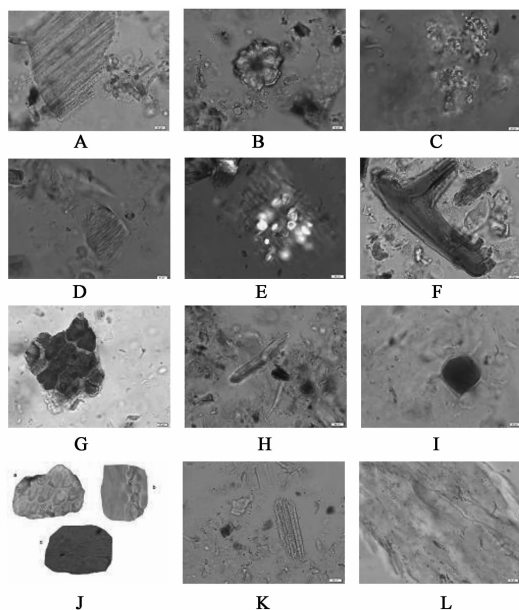
盐酸小檗碱对照品(批号 110713-200107)、盐酸麻黄碱对照品(171241-200102)、当归对照药材(120927-200512)、去氢木香内酯对照品(111525-200102)、大黄酚对照品(110796-200311)、甘草苷对照品(111610-200503)、冰片对照品(0743-200302)、2,3,5,4-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品(批号 0844-200003)均购自中国食品药品检定研究院;大活络丸(江西药都樟树制药有限公司提供,批号 100601,100602,100603),乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 鉴别

**2.1.1 显微鉴别** 取供试品适量,加热水,研匀,离心,倾去上清液,反复 2~3 次洗去蜂蜜,取残渣加适量水合氯醛试液透化,装片,置于显微镜下检视,置 10×40 倍显微镜下检视。结果纤维细长,直径 10~24 μm,壁极厚,表面附有细小的草酸钙砂晶和方晶,形成嵌晶纤维(麻黄)。草酸钙簇晶大,棱角大多短钝,直径 80~135 μm(大黄)。草酸钙簇晶细小,直径 4~26 μm,常多个簇晶聚集于薄壁细胞中,或排列成行,棱角大多尖锐(丁香)。菌丝体近无色,细长卷曲缠绕在体壁中(僵蚕)。草酸钙方晶成片存在于薄壁细胞中,呈多面形、菱形或方形(青皮)。鳞片碎片黄棕色或红棕色,细胞长条形或不规则形,壁稍厚,平直或弯曲,边缘为两细胞并生的毛状物(骨碎补)。内种皮石细胞红棕色或黄棕色,表面观类多角形,壁厚,胞腔内含硅质块(豆蔻)。韧皮纤维单个散在,短梭形,淡黄色,壁较厚,孔沟明显(黄芩)。分泌细胞内含淡黄棕色或红棕色分泌物,周围 7~8 个薄壁细胞略作放射状排列,或可见单独脱落的分泌细胞(香附)。体壁碎片淡黄色至黄色,有网状纹理及圆形毛窝,有时可见棕褐色刚毛。体壁碎片淡黄色至黄色,外表皮表面观呈多角形网状纹理,密布细小颗粒,有时可见圆形毛窝小圆孔口及瘤状突起(全蝎)。木纤维束鲜黄色,壁稍厚,纹孔明显(黄连)。不规则碎片灰白色或浅灰黄色,稍具光泽,表面有灰棕色色素颗粒,并有不规则纵长裂缝(水牛角浓缩粉)。见图 1。

**2.1.2 当归的薄层鉴别** 取本品 2 丸,剪碎,加乙醚 30 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液浓缩至 1 mL,作为供试品溶液。取缺当归阴性样品,同法制成缺当归阴性对照溶液。另取当归对照药材 0.2 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 2 种溶液



A. 嵌晶纤维-麻黄; B. 草酸钙簇晶-大黄; C. 草酸钙簇晶-丁香;  
D. 菌丝-僵蚕; E. 草酸钙方晶-青皮; F. 鳞片碎片-骨碎补;  
G. 内种皮石细胞-豆蔻; H. 韧皮纤维-黄芩; I. 分泌细胞-香附;  
J. 体壁碎片-全蝎; K. 木纤维-黄连; L. 不规则碎片-水牛角浓缩粉

图 1 大活络丸粉末显微鉴别特征

各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(9:1)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。缺当归阴性对照无干扰。

**2.1.3 木香的薄层鉴别** 取本品 5 丸,剪碎,加甲醇 40 mL,加热回流 1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用三氯甲烷振摇提取 3 次,每次 30 mL,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取缺木香阴性样品,同法制成缺木香阴性对照溶液。另取去氢木香内酯对照品,加三氯甲烷制成每 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》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 2 种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯(10:12:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1% 香草醛硫酸溶液,在 105 °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。木香阴性对照无干扰。

**2.1.4 甘草的薄层鉴别** 取本品 2 丸,剪碎,加三氯甲烷 50 mL,超声处理 30 min,滤过,弃去三氯甲烷液,药渣挥干三氯甲烷,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 5 mL,加于中性氧化铝

柱(100~200目,15g,内径10~15mm)上,用40%甲醇150mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加30mL水溶解,用水饱和的正丁醇提取4次,每次20mL,合并正丁醇液,用正丁醇饱和的水洗涤4次,每次20mL,取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,作为供试品溶液。取缺甘草阴性样品,同法制成缺甘草阴性对照溶液。另取甘草苷对照品,加甲醇制成每1mL各含0.5mg的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取供试品溶液2.5 $\mu$ L和对照品溶液1 $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365nm)下检视。紫外光灯(365nm)下,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。缺甘草阴性对照无干扰。

**2.1.5 冰片的气相色谱鉴别** 色谱条件与系统适用性:HP-INNOWAX弹性石英毛细管柱(0.25 $\mu$ m $\times$ 30m $\times$ 0.32mm),PEG-20M,涂布厚度0.25 $\mu$ m,柱温140 $^{\circ}$ C,进样口温度200 $^{\circ}$ C,检测器温度300 $^{\circ}$ C,检测器FID。

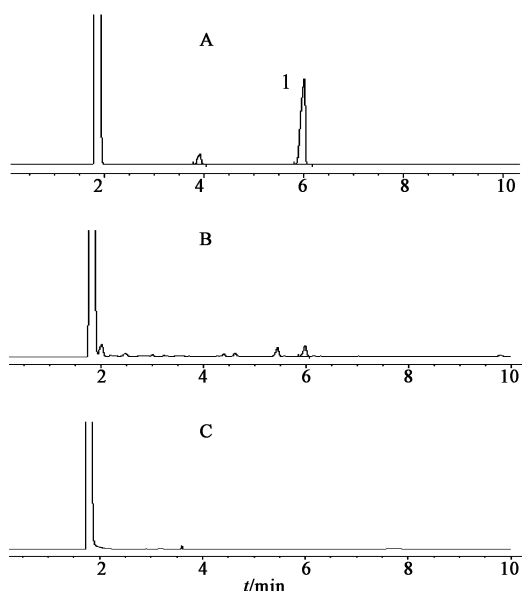
取本品3丸,剪碎,加乙醚50mL,超声处理15min,滤过,滤液浓缩至1mL,作为供试品溶液。取缺冰片阴性样品,同法制成缺冰片阴性对照溶液。另取冰片对照品,加乙醚制成每1mL含1mg的溶液,作为对照品溶液。照气相色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI E)试验,以聚乙二醇(PEG)-20M为固定相,柱长30m,涂布厚度0.25 $\mu$ m,柱温140 $^{\circ}$ C。分别吸取上述2种溶液1 $\mu$ L注入气相色谱仪,记录色谱图。供试品溶液色谱呈现与对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰,缺冰片阴性对照无干扰(图2)。

## 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件与系统适用性** Kromasil C<sub>18</sub>(4.6mm $\times$ 150mm,5.0 $\mu$ m)色谱柱,柱温30 $^{\circ}$ C,流动相乙腈-水(15:85),检测波长320nm,流速1.0mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>。

在上述色谱条件下,供试品中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷与其他色谱峰分离度良好。为确保定量分析的准确性,在系统适用性实验中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷理论塔板数不得低于2000。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品10丸,精密称



A. 对照品;B. 样品;C. 阴性;1. 冰片

图2 冰片GC色谱

定,剪碎,精密加入适量硅藻土,研细,取混合粉末适量(相当于取本品约1.3g),精密称定,精密加入70%乙醇20mL,称定质量,加热回流30min,再称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液用微孔滤膜滤过,即得。(注:避光操作)

**2.2.3 对照品溶液的制备** 精密称取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品适量,加70%乙醇制成每1mL含20 $\mu$ g的溶液,即得。

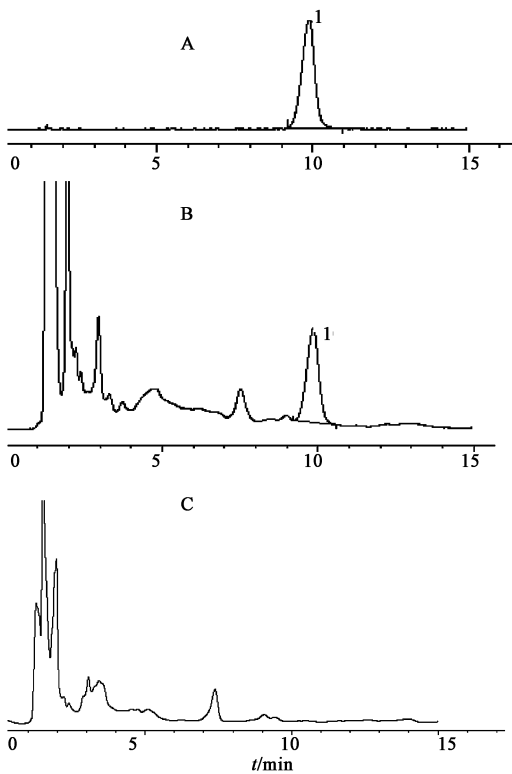
**2.2.4 阴性对照溶液** 取缺制何首乌阴性样品,按供试品溶液的制备方法制成缺何首乌阴性对照溶液。

**2.2.5 专属性试验** 取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各10 $\mu$ L,注入液相色谱仪,按本文中色谱条件测定,结果供试品色谱中,具有与2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品相同保留时间的色谱峰,缺何首乌阴性样品在相同保留时间处无色谱峰干扰(图3)。

**2.2.6 线性关系考察** 取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品适量,加70%乙醇溶液制成每1mL中含20.68,206.8 $\mu$ g的溶液,作为对照品溶液(1)与(2)。取对照品溶液(1)20.68mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>的溶液,分别进样1,5,10,20 $\mu$ L,取对照品溶液(2)206.8mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>的溶液,分别进样5,10 $\mu$ L,记录峰面积,以峰面积为纵坐标Y,进样量( $\mu$ g)为横坐标X,进行线性回归,结果线性方程 $Y = 3.5043X - 36.52$ ( $r = 0.9999$ ),因此2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯

表 1 大活络丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷加样回收率试验测定 (n=9)

取样量 /g	样品中含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.812 1	119.10	101.20	217.2	96.89		
0.803 4	117.84	101.20	217.2	98.22		
0.803 3	117.82	101.20	217.4	98.37		
0.803 9	117.91	121.44	238.1	98.98		
0.801 8	117.60	121.44	239.2	100.11	97.9	1.33
0.802 2	117.66	121.44	237.1	98.35		
0.801 1	117.50	141.68	254.1	96.42		
0.808 1	118.53	141.68	257.1	97.90		
0.807 7	118.47	141.68	254.4	95.96		



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性;

1. 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

图 3 大活络丸 HPLC 色谱

烯-2-O-β-D-葡萄糖苷在 20.68 ~ 2 068 ng 进样量与峰面积呈良好的线性关系。

**2.2.7 稳定性考察** 取加样供试品溶液分别于 0, 1, 2, 3, 6, 9, 18, 24 h 进样测定, 记录 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰面积, RSD 0.90%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.2.8 重复性试验** 取大活络丸(批号 100601), 按供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液, 依法测定, 计算含量 RSD, 结果为 0.220 8, 0.223 4, 0.221 7, 0.224 2, 0.224 0, 0.223 3 mg · g<sup>-1</sup>, RSD 0.61%。

**2.2.9 回收率试验** 取大活络丸(批号 100601, 按 2:1 比例加硅藻土研细)0.8 g, 精密称定, 加入 202.4 mg · L<sup>-1</sup> 的对照品溶液 0.5, 0.6, 0.7 mL, 各一式 3 份, 分别加入 70% 乙醇, 使总体积为 20 mL, 称定质量, 加热回流 30 min, 再称定质量, 用 70% 乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。测定, 结果见表 1。

**2.2.10 样品测定** 取 3 批样品按供试品溶液的制备方法分别制备供试品溶液, 测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量, 结果分别为 0.80, 0.77, 0.77 mg/丸。

大活络丸为每 100 g 粉末加炼蜜 145 ~ 155 g, 制成 3.5 g · 丸<sup>-1</sup>, 处方量为 1 400 g 生药粉含 40 g 何首乌, 则每丸含何首乌为 40 mg。根据《中国药典》2010 年版一部“何首乌”项下二苯乙烯苷的含量限度为 1.0%, 则大活络丸中二苯乙烯苷的理论含量为 0.4 mg · 丸<sup>-1</sup>, 根据理论含量的 75%, 拟订限度为每丸含 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷不得低于 0.30 mg。

### 3 讨论

大活络丸的处方组成药味众多, 且均以生药原药粉入药, 本研究创新的采用了显微鉴别法选择专属性强、易于观察的药材显微鉴别特征进行鉴别, 最终建立了 11 种药味的显微鉴别, 方法简便。

研究过程中还研究了大黄、黄连、麻黄的 TLC 鉴别方法, 方法可行, 阴性对照无干扰, 但由于已采用显微鉴别方法对这 3 味药进行了鉴别, 因此最终将这 3 味药的 TLC 鉴别删除。本研究曾尝试建立红参、葛根、血竭的 TLC 鉴别方法, 经考察多种供试品溶液的制备方法及其展开剂, 均因斑点不清晰、阴性对照有干扰或供试品色谱未检出相应对照品或对照药材的特征斑点而未能成功建立其鉴别方法, 特别是红参是君药之一, 目前尚未能成功建立鉴别或含量测定方法, 还有待下一步继续深入研究。

冰片的鉴别多为薄层色谱法, 但由于本处方药味众多, 产生干扰, 本研究采用气相色谱法进行鉴别, 专属性更强, 方法简便易行。处方中的丁香、肉桂和人工麝香都含有挥发性成分, 拟继续探索研究气相色谱法同时鉴别冰片、丁香酚、桂皮醛和麝香酮的方法。

## HPLC 测定参杞强精胶囊中金丝桃苷含量

田元春<sup>1\*</sup>, 刘倩<sup>1</sup>, 韦水林<sup>2</sup>, 宾彬<sup>1</sup>

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023; 2. 桂林医学院, 广西 桂林 541004)

**[摘要]** 目的: 建立参杞强精胶囊中金丝桃苷含量的高效液相色谱测定方法。方法: 采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (17:83), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 350 nm, 柱温 31 °C, 进样量 20 μL。结果: 金丝桃苷与样品中其他组分分离效果好。金丝桃苷的线性范围为 0.120 1 ~ 1.201 6 μg (r = 0.999 9), 平均加样回收率 (n = 6) 99.12% (RSD 1.90%); 供试品溶液在 24 h 内稳定。结论: 方法灵敏度高, 操作简便, 准确可靠, 可用于参杞强精胶囊中金丝桃苷的含量测定。

**[关键词]** 金丝桃苷; 参杞强精胶囊; 高效液相色谱; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0149-03

**[doi]** 10.11653/syfyj2013140149

## HPLC Quantitative Determination of Hyperin in Shenqiqiangjing Capsule

TIAN Yuan-chun<sup>1\*</sup>, LIU Qian<sup>1</sup>, WEI Shui-lin<sup>2</sup>, BIN Bin<sup>1</sup>

(1. First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China;  
2. Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop an HPLC method for determination of hyperin in Shenqiqiangjing Capsule. **Method:** Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was adopted, the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphatic acid (17:83) at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was set at

**[收稿日期]** 20121029(013)

**[基金项目]** 广西壮族自治区卫生厅中医医院制剂类课题 (GZYZ-10-05); 广西中医药管理局中医药科技专项 (GZYZ1101)

**[通讯作者]** \* 田元春, 副主任药师, 从事医院药学, 临床药学研究, Tel: 0771-5840015, E-mail: tianyc1989@163.com

### [参考文献]

- [1] 卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第 6 册 [S]. 1992:12.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:124, 58, 80, 22, 300, 164.
- [3] 徐国钧. 中药材粉末显微鉴定 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986:688, 168, 332, 758, 456, 125, 522, 144, 266, 748, 286, 760.
- [4] 李芸, 苗小楼, 封士兰, 等. 中药浓缩丸中 7 味药材的鉴别 [J]. 中成药, 2005, 12(27): 附 2.
- [5] 刘永生, 李晓坤, 王金菊. 新生化颗粒质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 95.
- [6] 韩慧琴, 曾春萍, 谢颖, 等. 逍遥丸 (水丸) 质量标准 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 116.
- [7] 李颖春, 郭念欣, 姬生国. 麻夷鼻炎喷雾剂的质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 92.
- [8] 赵荣华, 赵声兰, 文丹, 等. 何首乌不同部位二苯乙烯苷含量测定 [J]. 云南中医学院学报, 2008, 31(2): 9.
- [9] 粟力杰. HPLC 法测定何首乌中二苯乙烯苷的含量 [J]. 中国当代医药, 2010, 17(18): 41.
- [10] 冯兵, 陈婷, 赵瑞芝, 等. HPLC 测定复方昆丹胶囊中芍药内酯苷、芍药苷、二苯乙烯苷、五没食子酰葡萄糖 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 113.
- [11] 张莉. 高效液相色谱法测定龟甲养阴片中四羟基二苯乙烯苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(4): 13.

[责任编辑 顾雪竹]