

蒙药益智温肾十味丸质量标准

张屏, 赵·德力格尔呼, 哈斯其木格, 格根塔娜, 包保全*

(内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽 028000)

[摘要] **目的:** 建立蒙药益智温肾十味丸的显微、薄层、理化鉴别方法和高效液相含量测定方法, 提高其质量控制水平。**方法:** 在显微镜下观察本品粉末, 以种皮厚壁细胞、石细胞群和体壁碎片为指标, 鉴别本品中益智、苦石莲、冬葵果和方海; 提取挥发油, 点样于硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 环己烷-乙酸乙酯(9:1) 展开, 以标准药材为对照, 鉴别本品中的益智; 理化方法鉴别白矾砂中氯化铵和方海中碳酸钙。对草茛中胡椒碱进行含量监控, 用 ODS 填充的色谱柱, 甲醇-水(77:23) 为流动相, 343 nm 波长下测定。**结果:** 方法可有效鉴别本品中益智、苦石莲、冬葵果、方海和白矾砂 5 味药材, 高效液相含量测定方法在 0.040 4 ~ 0.282 8 μg 线性良好 ($r=0.999\ 9$), 胡椒碱的平均回收率为 98.1%, RSD 0.62%, 含量限度为不得少于 1.4 mg·g⁻¹。**结论:** 该方法可有效控制本品质量。

[关键词] 益智温肾十味丸; 定性鉴别; 含量测定; 质量控制

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0075-04

[doi] 10.11653/syjf2013130075

Research on Quality Standard of Traditional Mongolian Patent Medicine Sugmul-10 Pills

ZHANG Ping, JO Delgerhu, Haschimeg, Gegentana, BAO Bao-quan*

(Mongolia Medicine College, Inner Mongolian University for the Nationalities, Tongliao 028000, China)

[Abstract] **Objective:** To improve the quality standard of the traditional Mongolian patent medicine Sugmul-10 pills by the establishing of microscopic, TLC, physiochemical identification, and HPLC content assay methods. **Method:** *Alpiniae oxyphyllae fructus*, *Caesalpinia fructus*, *Malva fructus* and *Eriocheir sinensis* were identified by microscopical analysis of episperm sclerenchymatous cells, sclerotic nests and body wall debris in the sample powder. TLC identification of *Alpiniae oxyphyllae fructus* was performed on a silica gel plate GF₂₅₄, with cyclohexane-ethyl acetate (9:1) as developing solvent and standard medicinal materials as controls. Physiochemical methods were used to identify ammonium chloride in *Sal Ammoniacus* and calcium carbonate in *Eriocheir sinensis*. Piperine from *Piperis longi fructus* was selected for content supervision. HPLC method was performed on a ODS column, eluted with methol-H₂O (77:23), and detected at 343 nm. **Result:** Five medicinal materials from Sugmul-10 pills can be identified by the methods, including *Alpiniae oxyphyllae fructus*, *Caesalpinia fructus*, *Malva fructus*, *Sal Ammoniacus* and *Eriocheir sinensis*. HPLC content determination method showed good linearity ($r = 0.999\ 9$) in the range of 0.040 4-0.282 8 μg. The average recovery rate of piperine was 98.1% with RSD 0.62%, and the content limitation is not less than 1.4 mg·g⁻¹. **Conclusion:** This methods can effectively control the product quality.

[Key words] Sugmul-10 pill; qualitative identification; determination of the content; quality control

[收稿日期] 20110907(011)

[基金项目] 国家药品标准提高研究课题(460)

[第一作者] 张屏, 博士, 副教授, 从事天然药物化学和药品质量标准化研究, Tel: 0475-8314468, E-mail: zp1977122@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 包保全, 博士, 教授, 从事蒙药活性物质基础及资源研究, Tel: 0475-8314294, E-mail: baobaoquan@yahoo.com.cn

益智温肾十味丸蒙文名苏格木勒-10,是由益智、方海各 150 g,白矾砂、干姜、萆薢、榧子、莲子、苦石莲、冬葵果各 60 g,麝香 0.1 g 10 味药制成的水丸制剂,具有祛肾寒、利尿功效,用于治疗肾寒肾虚、腰腿痛、尿闭、肾结石。组方中益智为肾寒之主方;配以下三子(榧子、莲子、石莲子)以抑赫依,利胃、肾;干姜、萆薢以补胃火,祛巴达干赫依;冬葵果、方海、白矾砂以利尿消肿;麝香以除黑黄水,止痛^[1]。本品于 1998 年收载入《卫生部药品标准》(蒙药分册)^[2],其质量控制项下仅收载了性状和丸剂检查项,缺乏定性鉴别和含量测定项,难以有效控制该制剂的质量。本课题组对其进行了质量标准研究,增加了显微鉴别、薄层鉴别等常规检查,建立了萆薢中胡椒碱的含量测定方法,从多指标多角度控制该制剂的质量^[3-4]。

1 材料

1.1 益智温肾十味丸 内蒙古库伦蒙药厂生产,批号 100402;内蒙古蒙药股份有限公司生产,批号 100444,100418;内蒙古乌兰浩特中蒙制药有限公司生产,批号 090311,090310,090616。

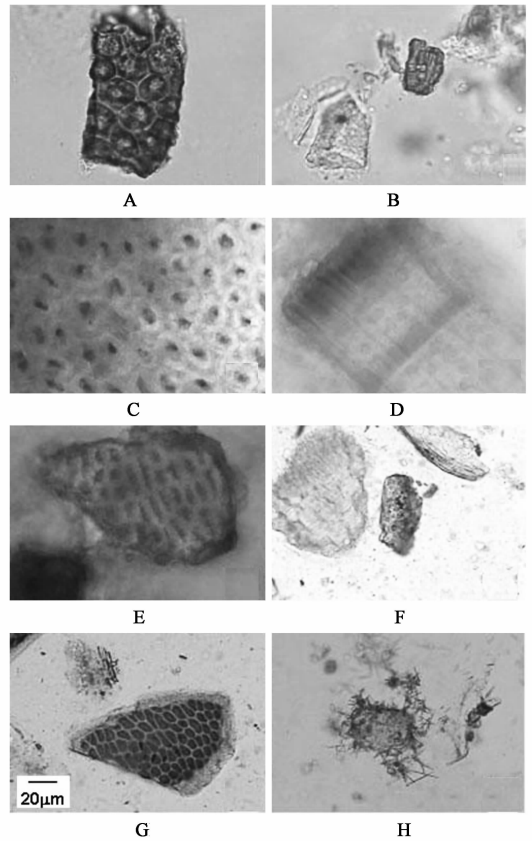
1.2 仪器 日本岛津 Shimadzu LC-20A 高效液相色谱仪,Diamondsil ODS (2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),YMC-ODS A 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),德国赛多利斯 Sartorius BT 25S 电子天平,Olympus 摄影生物显微镜(北京中显恒业仪器仪表有限公司组装),HU-10250/20B 型超声波清洗仪(250 W,20 kHz,天津市恒奥科技发展有限公司)。

1.3 试剂 胡椒碱对照品(供含量测定用,0775-200203)、益智对照药材(121029-200503)均由中国药品生物制品检定所提供。硅胶 GF₂₅₄、薄层板 GF₂₅₄(青岛海洋化工厂)。甲醇为色谱纯,水为二次重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别 取本品,置显微镜下观察:内种皮厚壁细胞黄棕色或红棕色,表面观呈类多角形,壁厚,非木化,直径 13 ~ 27 μm,胞腔内含硅质块(益智);种皮栅状细胞一行,细胞狭长,长径 210 ~ 276 μm,短径 6 ~ 14 μm,壁甚厚,胞腔狭细,近中部有一条明显的光辉带(苦石莲);种皮栅状细胞表面观细胞界限不清晰,细胞细小,呈星状,常与红棕色种皮细胞相连,侧面观为 1 列柱状细胞,长 33 ~ 46 μm,直径 8 ~ 12 μm,壁甚厚,木化,胞腔梭形(冬葵果)。体壁碎片不规则,淡黄色或无色,表面可见细密纹理

或点状物,棒状碎片胞腔明显,有时可见刚毛(方海)(图 1)。



1. 益智内种皮厚壁细胞正面观;2. 益智内种皮厚壁细胞侧面观;
3. 苦石莲种皮栅状细胞正面观;4. 苦石莲种皮栅状细胞侧面观;
5. 冬葵果种皮栅状细胞正面观;6. 冬葵果种皮栅状细胞侧面观;
7. 冬葵果棕色种皮细胞;8. 方海体壁碎片和刚毛

图 1 益智温肾十味丸显微鉴别

2.2 薄层鉴别 取本品 20 g,研细,照挥发油测定法^[5-6]提取挥发油,加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取益智对照药材 1 g,加无水乙醇 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。吸取上述两种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 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(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材相应的位置上,显相同颜色的斑点;喷以二硝基苯胍乙醇试液,放置片刻,斑点渐变为橙红色,阴性无干扰。

2.3 理化鉴别 取本品 0.2 g 置试管中,加 10% 氢氧化钠溶液,加热,产生刺鼻的氨气,并可使湿润的红色石蕊试纸变蓝(白矾砂)。取本品 2 g,研细,置试管中,加胶塞(胶塞中间插入一弯管,另一端插入盛有氢氧化钙溶液的管里),再加入盐酸,立即塞紧,则不断产生气泡,氢氧化钙溶液变成白色浑浊,

放置后有白色沉淀(方海)。

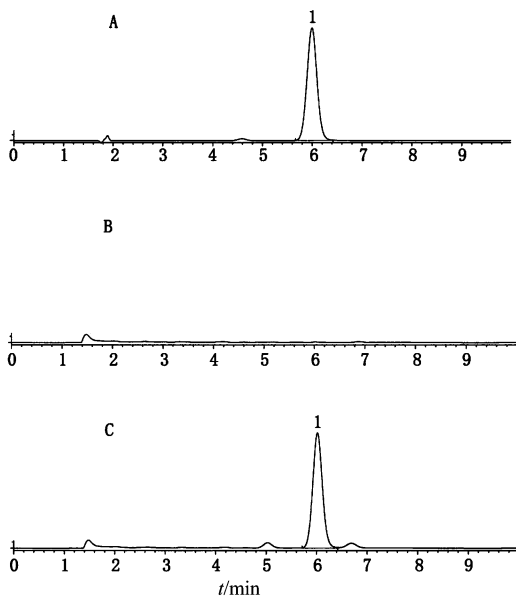
2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件 Diamonsil ODS (2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(77:23), 检测波长 343 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 ℃。在此高效液相色谱条件下, 胡椒碱与样品中其他组分色谱峰达基线分离, 峰形良好, 理论塔板数大于 4 000。换用不同的色谱柱 YMC-ODS A 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 和 Inertsil ODS-SP(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 色谱峰出峰时间、峰形、分离度、积分面积均与前柱差别不大, 说明该测定条件普遍适用于 ODS 填料的色谱柱^[7]。

2.4.2 对照品溶液的制备 取胡椒碱对照品适量, 精密称定, 置棕色量瓶中, 加无水乙醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液, 即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇 40 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 20 kHz) 30 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.4 专属性考察 处方中除去萆薢, 按制剂工艺制备, 制得供试品阴性对照样品, 按供试品溶液制备的方法制备阴性对照溶液。吸取上述溶液各 10 μL, 分别按色谱条件进样分析, 结果阴性样品无干扰, 见图 2。



A. 对照品; B. 缺萆薢空白样品; C. 供试品; 1. 胡椒碱

图 2 益智温肾十味丸 HPLC

2.4.5 线性关系考察 取上述胡椒碱对照品溶液 2, 4, 8, 10, 12, 14 μL, 注入高相液相色谱仪, 按色谱条件分析, 测定各自峰面积, 以对照品进样量(μg)

为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 求得回归方程 $Y = 10\ 261\ 563X - 12\ 868$ ($r = 0.999\ 9$), 结果表明在 0.040 4 ~ 0.282 8 μg 线性良好。

2.4.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测得峰面积 RSD 0.08%, 表明仪器精密度良好。

2.4.7 重复性试验 取同一批号的样品(批号 100444), 分别制备 6 份供试品溶液, 进样 10 μL, 测定胡椒碱峰面积并计算含量, 结果平均含量为 2.018 mg·g⁻¹, RSD 0.96%, 结果表明方法的重复性良好。

2.4.8 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号 100444), 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 10 μL, 测得胡椒碱峰面积 RSD 0.29%, 表明供试品 8 h 内稳定。

2.4.9 回收率试验 取批号为 100444 的益智温肾十味丸 6 份, 各约 0.25 g, 分别加入胡椒碱对照品溶液适量, 再按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 测定胡椒碱的含量, 计算胡椒碱的平均回收率为 98.1%, RSD 0.62%, 见表 1。

表 1 胡椒碱加样回收率测定

取样量 /g	样品含量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.250	0.504	1.004	98.9		
0.249	0.503	0.996	97.6		
0.251	0.506	1.004	98.7		
0.250	0.505	0.997	97.4	98.1	0.62
0.250	0.505	1.001	98.2		
0.250	0.505	0.999	97.8		

注: 加入量均为 0.505 mg。

2.4.9 含量测定及含量限度的确定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 按照公式

$$\text{转移率} = \frac{\text{制剂含量}}{\text{药材含量} \times \text{处方中萆薢含量}} \times 100\%$$

计算制剂过程中胡椒碱的转移率(萆薢原料药中胡椒碱的含量由各生产厂家提供), 平均转移率为 71.0%, 结果见表 2。《中国药典》2010 年版一部规定, 萆薢原药材中胡椒碱含量不得低于 2.5%^[5]。该方为原粉入药制剂, 结合生产实际, 胡椒碱的转移率按 70% 计算, 即得每 1 g 益智温肾十味丸中胡椒碱(C₁₇H₁₉NO₃)含量, 不得少于 1.4 mg。

3 小结

本品为蒙医临床常用的复方制剂, 组方配伍具蒙医用药特色, 目前对其单味药的质量标准研究较少。该质量控制方法从蒙药组方原则出发, 选择其

HPLC 同时测定骨愈注射液中三七总皂苷和淫羊藿苷含量

盛华刚*

(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的:建立骨愈注射液中三七总皂苷和淫羊藿苷的含量测定方法。方法:Diomonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 3.5 μm),流动相乙腈-水,梯度洗脱,体积流量 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 203 nm,柱温 25 °C。结果:淫羊藿苷线性范围 1.06 ~ 10.60 μg,平均回收率为 100.2%,RSD 1.54%,三七皂苷 R₁ 线性范围 0.42 ~ 4.20 μg,平均回收率 100.6%,RSD 1.89%,人参皂苷 R_{g1} 线性范围 1.90 ~ 18.97 μg,平均回收率 99.9%,RSD 1.09%,人参皂苷 R_e 线性范围 0.18 ~ 1.78 μg,平均回收率 100.8%,RSD 1.96%,人参皂苷 R_{b1} 线性范围 2.23 ~ 22.34 μg,平均回收率 101.4%,RSD 1.83%,人参皂苷 R_d 线性范围 0.45 ~ 4.53 μg,平均回收率 101.2%,RSD 2.37%。结论:方法准确可靠,适用于同时测定骨愈注射液中三七总皂苷和淫羊藿苷含量。

[关键词] 骨愈注射液;三七总皂苷;淫羊藿苷;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)13-0078-04

[doi] 10.11653/syfy2013130078

Simultaneous Determination of Panax Notoginseng Saponins and Icaritin in Guyu Injection by HPLC

SHENG Hua-gang*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[收稿日期] 20121224(021)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-013)

[通讯作者] * 盛华刚,讲师,博士,从事中药新制剂的研究,Tel:0531-89628590, E-mail:shenghuagang@sina.com

表 2 益智温肾十味丸中胡椒碱的含量和转移率

批号	胡椒碱/mg·g ⁻¹		转移率 /%
	制剂	药材	
100402	1.541	27	68.5
100444	2.018	33	73.4
100418	2.072	33	75.4
090311	1.834	30	73.4
090310	1.799	30	72.0
090616	1.577	30	63.1

中 6 味重要药材(益智、萆薢、苦石莲、冬葵果、方海、白矾砂)进行定性鉴别和含量测定。其中薄层鉴别和理化鉴别方法简单易行,胡椒碱含量测定方法稳定、准确、可靠,该方法可有效地控制益智温肾十味丸的质量,并适合推广运用。

[参考文献]

[1] 中国医学百科全书编辑委员会. 中国医学百科全书·

蒙医学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1992:271.

[2] 卫生部药典委员会. 卫生部药品标准蒙药分册[S]. 北京:人民卫生出版社,1998:155.

[3] 吴红彦,攀秦,纪兰菊. 藏药石榴健胃片质量控制方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):70.

[4] 王艳,陈咏梅. 国家药品质量标准执行中存在的问题及对策[J]. 安徽医药,2007,11(4):371.

[5] 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:附录 63.

[6] 林国钗,谢燕,李国文,等. 地黄益智颗粒中挥发油提取及包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):32.

[7] 白音夫,陈广荣,阿拉坦其其格. HPLC 法测定哈日嘎日迪-5 胶囊胡椒碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(4):78.

[责任编辑 顾雪竹]