

壮腰补肾丸的质量标准研究

李君^{1,2*}, 朱磊^{1,2}, 闫芳^{1,2}, 闫春风^{1,2}, 王春民^{1,2}, 董海荣^{1,2}, 商春丽¹

(1. 承德颈复康药业集团有限公司, 承德 067000;

2. 河北省中药新辅料工程技术研究中心, 河北承德 067000)

[摘要] 目的:研究和修订壮腰补肾丸质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对壮腰补肾丸中的当归、红参、续断、黄芪、五味子进行定性鉴别;采用HPLC测定川续断皂苷Ⅵ的含量。结果:当归、红参、续断、黄芪、五味子的TLC鉴别法专属性强,简单可行。HPLC含量测定,川续断皂苷Ⅵ在 $0.0716 \sim 0.716 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积成良好的线性关系($r = 0.9999, n = 7$);川续断皂苷Ⅵ的回收率为99.15%,RSD 1.42%。结论:该法能更为有效的控制壮腰补肾丸的质量。

[关键词] 壮腰补肾丸;薄层色谱鉴别;高效液相色谱法;质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0100-04

Study on Quality Standard of Zhuangyao Bushen Pills

LI Jun^{1,2*}, ZHU Lei^{1,2}, YAN Fang^{1,2}, YAN Chun-feng^{1,2},

WANG Chun-min^{1,2}, DONG Hai-rong^{1,2}, SHANG Chun-li¹

(1. Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co. Ltd, Chengde 067000, China;

2. New Excipients of Traditional Chinese Medicine Engineering Research Center of Hebei Province, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** Study and revise the quality standard of Zhuangyao Bushen pills. **Method:** *Astragalus membranaceus*, red ginseng, *Dipsacus asper*, Radix Astragal, Schisandrae Chiensis Fructus in Zhuangyao Bushen pills were identified by TLC method and the content of asperosaponin VI was determined by HPLC. **Result:** TLC identification method for *A. membranaceus*, Angelicae, red ginseng, *dipsacus asperoides*, Radix Astragal, Schisandrae Sphenantherae Fructus was simple and feasible with strong specificity. Asperosaponin VI content was linear in the range of $0.0716 \sim 0.716 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; the recovery was 99.15%, RSD 1.42%. **Conclusion:** The method can effectively control the quality of Zhuangyao Bushen pills.

[Key words] Zhuangyao Bushen pills; TLC; HPLC; quality standards

[收稿日期] 20120428(005)

[第一作者] 李君,本科,工程师,从事中药质量标准研究,Tel:0314-2292050, E-mail:lizi_1123_0@163.com

(25:75:0.2)的分离情况,前几种流动相的峰型拖尾较严重。最终选择甲醇-水-磷酸(25:75:0.2)为流动相,待测物质与杂质完全分离,加入少量磷酸能获得较好的峰形,结果满意。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:313,1139,1186.
- [2] 李春篱,吴超伟,滕忠,等. HPLC法测定花红牌飞燕口服液中葛根素含量[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(5):421.

- [3] 陈曼,史键,王骊丽,等. 反相高效液相色谱法测定康肾颗粒中的葛根素[J]. 色谱, 2006, 24(5):489.
- [4] 李守拙,李云霞. 颈复康冲剂中葛根素的含量测定[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2):101.
- [5] 刘春旭,张颖,刘建勋,等. HPLC法快速测定通脉颗粒中葛根素和阿魏酸[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):44.
- [6] 李雪晴,文爱东. HPLC测定康尔肤胶囊中葛根素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8):137.

[责任编辑 顾雪竹]

壮腰补肾丸由熟地黄、红参、当归、续断、黄芪、五味子等中药组成,具有壮腰补肾、益气养血的功效^[1],用于心悸少寐,健忘怔忡,腰膝酸痛,肢体羸弱^[2]。其标准项下没有鉴别项和含量测定项。为了更好地控制产品质量,我们采用薄层色谱鉴别法对方中红参、当归、续断、黄芪、五味子进行鉴别,采用高效液相色谱法^[3-5]对丸剂中川续断皂苷 VI 进行了含量测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),AE-240 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),KQ-250E 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 川续断皂苷 VI 对照品(批号 111685-201003 供含量测定用)、当归对照药材(批号 120927-201014)、人参皂苷 R_{g1} 对照品(批号 110703-200424)、人参皂苷 Re 对照品(批号 110754-200320)、人参皂苷 R_{b1} 对照品(批号 110734-200921)、黄芪甲苷对照品(批号 0781-200311)、五味子甲素对照品(批号 764-9402),均由中国药品生物制品检定所提供;壮腰补肾丸(批号 110734,110735,110840)由赤峰丹龙药业有限公司提供;薄层硅胶预制板(10 cm × 20 cm,10 cm × 10 cm,山东烟台市化工研究所生产)乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 当归^[6] 取本品 20 g,剪碎,加适量硅藻土研碎,加乙醚 60 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。照处方配比,除去当归,按壮腰补肾丸工艺制备当归阴性样品。取当归阴性样品,照供试品溶液制备方法同法制成阴性样品溶液。另取当归对照药材 0.5 g,加乙醚 20 mL,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 3 种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-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对应的位置上,显相同颜色的荧光主斑点,阴性样品色谱则无此斑点。

2.1.2 红参^[6] 取本品 7 g,剪碎,加适量硅藻土研碎,置索氏提取器中,加甲醇 100 mL,加热回流提取 3 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣用水 30 mL 溶解,转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,

每次 20 mL,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,正丁醇液蒸干,残渣用水 30 mL 溶解,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径为 1.5 cm,柱高为 12 cm),先后用水 50 mL,40% 乙醇 30 mL 和 70% 乙醇 50 mL 洗脱,收集 70% 乙醇洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。照处方配比,除去红参,按壮腰补肾丸工艺制备红参阴性样品。取红参阴性样品,照供试品溶液制备方法同法制成阴性样品溶液。另取人参皂苷 R_{g1} 对照品、人参皂苷 Re 对照品、人参皂苷 R_{b1} 对照品,分别加甲醇制成每 1 mL 含 1 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,吸取上述溶液各 2 ~ 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-乙酸乙酯-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,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。阴性样品色谱则无此斑点。

2.1.3 续断^[6] 照处方配比,除去续断,按壮腰补肾丸工艺制备续断阴性样品。取续断阴性样品,照红参鉴别项下供试品溶液制备方法同法制成阴性样品溶液。取川续断皂苷 VI 对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 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,吸取按 2.1.2 项下制备黄芪的供试品溶液 10 μL、川续断皂苷 VI 对照品溶液 2 μL,阴性样品溶液 10 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)10 °C 以下放置过夜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 °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,阴性样品色谱则无此斑点。

2.1.4 黄芪^[6] 照处方配比,除去黄芪,按壮腰补肾丸工艺制备黄芪阴性样品。取黄芪阴性样品,照红参鉴别项下供试品溶液制备方法同法制成阴性样品溶液。取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 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[鉴别](红参)项下的供试品溶液 10 μL、黄芪甲苷对照品溶液 2 μL,阴性样品溶液 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)10 °C 以下放置过夜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 °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,阴性样品色谱则无此斑点。

2.1.5 五味子^[7] 取本品 15 g,剪碎,加适量硅藻土研碎,加环己烷 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣用 1 mL 甲醇使溶解,作为供试品溶液。照处方比例,除去五味子,按壮腰补肾丸工艺制备五味子阴性样品。取五味子阴性样品,照供试品溶液制备方法同法制成阴性样品溶液。另取五味子甲素对照品,加环己烷制成每 1 mL 含 1 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,吸取五味子甲素对照品溶液 2 μ L、供试品溶液 20 μ L,阴性样品溶液 20 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(8:1.5)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,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性样品色谱则无此斑点。

2.2 含量测定

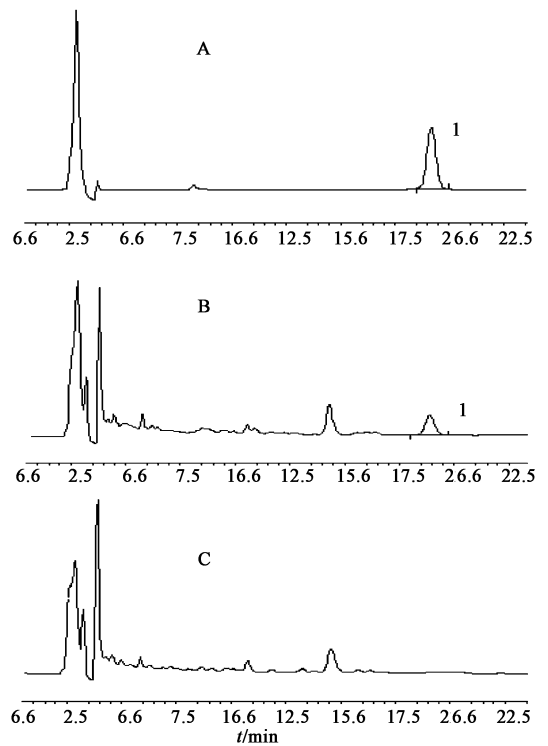
2.2.1 对照品溶液的制备 取川续断皂苷 VI 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.30 mg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品,剪碎,取约 10 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)40 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 50 mL,蒸干,残渣加水 30 mL 溶解,转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 30 mL,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 30 mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶液溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性供试品溶液的制备 取按处方除去续断药材的阴性样品,再按 2.2.3 供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液,按照上述色谱条件,吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪。见图 1。

2.2.4 色谱条件与系统适用性 资生堂 CAPCELL PAK C₁₈ MG 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),乙腈-0.05% 磷酸溶液(30:70)为流动相,流速 1 mL \cdot min⁻¹,柱温 25 $^{\circ}$ C,检测波长 212 nm,进样量 10 μ L。见图 1。

2.2.5 线性关系考察 精密称取川续断皂苷 VI 0.0179 g,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。分别精密量取对照品贮备液 1,2,



1. 川续断皂苷 VI

图 1 壮腰补肾丸对照品(A)样品(B)及阴性样品(C)HPLC

3,4,6,8 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μ L,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,以峰面积积分为纵坐标,川续断皂苷 VI 的质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 1\,998\,157.78X - 289.19$ ($r = 0.999\,9$),表明川续断皂苷 VI 在 0.0716 ~ 0.716 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 取同一川续断皂苷 VI 对照品溶液,精密吸取 10 μ L,连续进样 6 次,结果川续断皂苷 VI 峰面积 RSD 0.64%,仪器精密度良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批壮腰补肾丸,剪碎,分别称取 9 份,分为 3 组,每组分别为 8.0, 10.0, 12.0 g,精密称定,按供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,测定川续断皂苷 VI 峰面积并计算含量,平均含量为 0.545 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.85%,所建方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液分别在 0, 2,4,6,8,12,24 h 进样 10 μ L,共 7 次,结果峰面积的 RSD 0.89%,表明制备的供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.9 加样回收率试验 取同一批号已知含量供试品 20 丸(批号 110840,川续断皂苷 VI 含量为

HPLC 测定蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 的含量

李俊芳,崔雅慧,郑艳春,董海荣,黄飞龙

(承德颈复康药业集团有限公司河北省中药新辅料工程技术研究中心,河北承德 067000)

[摘要] 目的:建立蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法测定蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 的含量。色谱法分析条件为 Kromasil-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-乙腈-1.7% 甲酸水溶液(28:8:64),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 286 nm。结果:丹酚酸 B 在 0.150 4~15.04 μg 与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999 9$),平均回收率 98.90%,RSD 1.22%。结论:该方法操作简便,结果可靠,为蚁参蠲痹胶囊的质量研究提供有效的方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 蚁参蠲痹胶囊; 丹酚酸 B; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)18-0103-03

Content Determination of Salvianolic Acid B in Yishen Juanbi Capsule by HPLC

LI Jun-fang, CUI Ya-hui, ZHENG Yan-chun, DONG Hai-rong, HUANG Fei-long

(Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co. Ltd, New Excipients of Traditional Chinese Medicine
Engineering Research Center of Hebei Province, Chengde 067000, China)

[收稿日期] 20120307(007)

[第一作者] 李俊芳,工程师,从事中药新药制剂及质量研究,Tel:0314-2292050,E-mail:ljf19791221@163.com

0.526 mg·g⁻¹),剪碎,分别称取 9 份,每份 5 g,精密加入不同量的对照品,按供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,按上述色谱条件进行 HPLC 分析,测定川续断皂苷 VI 的峰面积,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 川续断皂苷 VI 含量测定加样回收率试验

| No. | 取样量 /g | 样品量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均 回收率 /% | RSD /% |
|-----|-----------|------------|------------|------------|-----------|-----------------|-----------|
| 1 | 5.000 1 | 2.725 1 | 2.072 | 4.793 3 | 99.82 | | |
| 2 | 5.002 1 | 2.726 1 | 2.072 | 4.739 3 | 97.16 | | |
| 3 | 5.003 2 | 2.726 7 | 2.072 | 4.817 8 | 100.92 | | |
| 4 | 5.002 3 | 2.726 3 | 2.59 | 5.245 | 97.25 | | |
| 5 | 5.001 5 | 2.725 8 | 2.59 | 5.277 9 | 98.54 | 99.15 | 1.42 |
| 6 | 5.001 2 | 2.725 7 | 2.59 | 5.306 3 | 99.64 | | |
| 7 | 5.002 2 | 2.726 2 | 3.018 | 5.736 9 | 99.76 | | |
| 8 | 5.001 1 | 2.725 6 | 3.018 | 5.732 7 | 99.64 | | |
| 9 | 5.000 6 | 2.725 3 | 3.018 | 5.750 2 | 100.23 | | |

2.2.2 和 2.2.3 项方法分别制备对照品溶液和供试品溶液,依法进样测定,结果 6 批样品中川续断皂苷 VI 的质量分数分别为 0.542,0.553,0.545,0.555,0.546,0.556 mg·g⁻¹,平均质量分数为 0.55 mg·g⁻¹。

[参考文献]

- [1] 吴楠. 壮腰补肾丸中熟地黄红参的薄层鉴别[J]. 中医函授通讯,2000,19(3):57.
- [2] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第 2 册. WS₃-B-0273-90.
- [3] 刘成红,武志. HPLC 测定强肾镇痛丸中川续断皂苷 VI[J]. 中成药,2009,31(12):1957.
- [4] 贾树娟,黄雪莹. HPLC 测定妇科止血灵片中川续断皂苷 VI 的含量[J]. 中国医药导报,2010,7(10):80.
- [5] 刘基柱,邓小慧,李淑贤,等. 仙灵壮骨胶囊中川续断皂苷 VI 的含量测定[J]. 河南中医,2009,29(7):707.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2010.
- [7] 姜泽静,卢燕,陈道峰. 南五味子的薄层色谱鉴别与质量标准研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2899.

[责任编辑 顾雪竹]

2.2.10 样品测定结果 取 6 批样品,按上述