

活血养阴颗粒质量标准研究

陈士翠¹, 鞠建明²

(1. 金湖食品药品监督管理局, 江苏 金湖 211600;

2. 江苏省中医药研究院, 南京 210028)

[摘要] 目的: 建立活血养阴颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对活血养阴颗粒中的葛根、益母草进行定性鉴别; 采用 HPLC 对制剂中葛根素进行了含量测定, 高效液相色谱条件 Alltima C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.3% 磷酸溶液 (26:74), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 35 °C, 以外标法计算含量。结果: TLC 色谱中能检出葛根、益母草; 高效液相色谱测定葛根素在 0.041 8 ~ 1.002 2 μg 呈良好的线性关系, $r=0.999 9$, 平均回收率 99.4%, RSD 1.4% ($n=6$)。结论: 该法可准确地进行定性、定量, 可有效地控制活血养阴颗粒的质量。

[关键词] 活血养阴颗粒; 益母草; 葛根; 葛根素; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] 284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0065-03

Study on the Quality Control Standard of Huoxue Yangyin Granules

CHEN Shi-cui¹, JU Jian-ming²

(1. Jintu SFDA, Jintu, 211600, China;

2. Jiangsu Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Huoxue Yangyin granules composed of *Herb Leonuri*, *Radix Puerariae Lobatae*. **Method:** The quality of each raw material was identified by TLC. The quantity of the preparation was conducted by HPLC and the method was developed with the condition as follows: Alltima C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase methanol-0.3% phosphoric acid (26:74), the temperature of column 35 °C, flow rate 1.0 mL·min⁻¹, calculating the content with external standard method. **Result:** *Herb Leonuri*,

[收稿日期] 20100602(005)

[基金项目] 江苏省社发项目(BS2007071)

[第一作者] 陈士翠, 主管中药师, 从事中药质量标准研究及制剂工艺研究, Tel:0517-6809653

统, 其中以甲醇-0.1% 磷酸溶液(48:52)系统的色谱峰对称性好, 供试品中所测组分离度好, 没有杂质干扰。

黄芩苷的提取方法有多种, 如水提取, 醇提取, 加热回流, 超声波提取等。黄芩苷在乙醇中的溶解度明显高于其在水中的溶解度, 由于加热回馏的提取方法较为复杂, 所以本文采用乙醇超声提取的方法。并且考察了超声 15, 30, 50, 75 min 处理的提取效果, 结果显示, 超声 50 min 黄芩苷提取完全。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005:224.

[2] 聂明华, 曾芳俐. 高效液相色谱法测定鼻嗅通喷雾剂中黄芩苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(2):281.

[3] 杨菊辉. HPLC 法测定清开灵颗粒中黄芩苷、绿原酸含量[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(21):8.

[4] 石钺, 李开通, 杨帅, 等. 感冒一小时胶囊中黄芩苷及盐酸小檗碱的 HPLC 测定[J]. 中成药, 2008, 30(10):147.

[5] 贾星. HPLC 测定湿必清注射液中黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(7):15.

[责任编辑] 蔡仲德

Radix Puerariae Lobatae could be detected by TLC. Puerarin was linear in a range of 0.041 8 ~ 1.002 2 μg ($r = 0.999 9$). The average recovery was 99.4%, and RSD was 1.4% ($n = 6$). **Conclusion:** This method is simple, reliable, accurate, and can be used to control the quality of Huoxue Yangyin granules.

[**Key words**] Huoxue Yangyin granules; *Herb Leonuri*; *Radix Puerariae Lobatae*; puerarin; TLC; HPLC

活血养阴颗粒主要由葛根、益母草、黄精等药物组成,具有化痰定痛、养阴通脉之功,临床上主要用于不稳定心绞痛的治疗。为了有效控制该制剂的内在质量,确保临床疗效,本研究对其质量标准进行了定性和定量研究,制定了葛根、益母草的薄层色谱定性鉴别,并建立了制剂中葛根素的高效液相含量测定方法。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪 (Alliance 2695 四元泵及自动进样系统、996 二极管矩阵检测器、Empower 色谱工作站);KQ-250E 型医用超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司);Millipore Milli-Q 纯水器 (美国);瑞士 METTLER 1/万及 1/10 万电子天平。

活血养阴颗粒 (自制);葛根素、盐酸水苏碱对照品系中国药品生物制品检定所提供,供含量测定用;硅胶 G (薄层色谱用,青岛海洋化工厂);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 益母草的薄层色谱鉴别 取本品适量研细,称取 3 g,加乙醇 25 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,无水乙醇溶解,通过中性氧化铝-活性炭柱 (中性氧化铝 3 g,活性炭 1 g),无水乙醇 40 mL 洗脱,洗脱液蒸干,以 1% 盐酸甲醇溶解并定容至 2 mL,作为供试品溶液。另取盐酸水苏碱对照品适量,加甲醇制成 3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色

谱法《中国药典》2005 年版一部附录 VI B 试验,吸取上述 2 种溶液各 10 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-盐酸-水 (4:1:0.5) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以改良碘化铋钾试液。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,且阴性无干扰。

2.1.2 葛根的薄层鉴别 取本品适量研细,称取 1 g,加乙醇 20 mL,超声处理 30 min,滤过,作为供试品溶液。另取葛根素对照品适量,加甲醇制成 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法《中国药典》2005 年版一部附录 VI B 试验,吸取上述 2 种溶液各 10 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水 (7:2.5:0.25) 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下 (365 nm) 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荧光斑点,且阴性无干扰。

2.2 葛根素的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Alltima C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.3% 磷酸溶液 (26:74),流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长 250 nm,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,在此色谱条件下,葛根素与相邻峰达到基线分离,分离度大于 1.5,理论板数按葛根素峰计算可达 5 000。同时取阴性对照品溶液进样,结果表明,阴性对照品在葛根素色谱峰位置处无相应峰出现。对照品、供试品及阴性对照品的高效液相色谱图,见图 1。

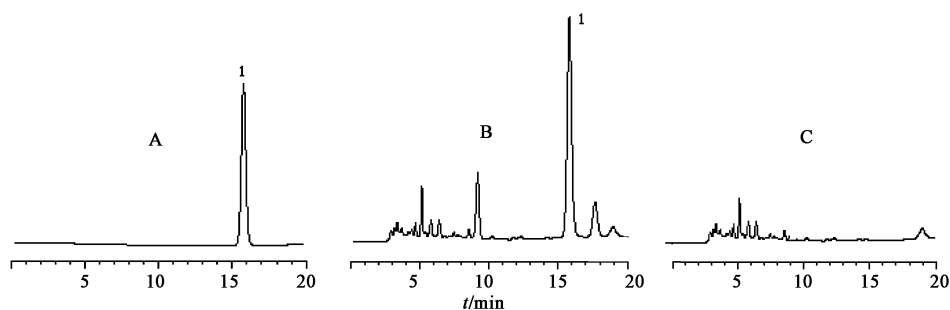


图 1 活血养阴颗粒 HPLC 图谱

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 葛根素

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取葛根素对照品适量,加 30% 甲醇溶解制成 $41.76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品适量,碾成细粉,精密称取 0.1 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 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 2 mL 置 10 mL 量瓶中加 30% 甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜 ($0.45 \mu\text{m}$) 滤过,即得。

2.2.4 线性范围考察 精密吸取葛根素对照品溶液 1.0, 4.0, 8.0, 12.0, 16.0, 20.0, 24.0 μL , 注入液相色谱仪,测定其峰面积,以进样量 (μg) 为横坐标,峰面积为纵坐标,得其回归方程 $Y = -7.92 \times 10^4 + 4.64 \times 10^6 X$ ($r = 0.9999$)。结果表明在 0.041 8 ~ 1.002 2 μg 葛根素峰面积积分值与进样量呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取葛根素对照品溶液 ($20.88 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),连续进样 5 次,每次 20 μL ,测得峰面积积分值 RSD 0.4%,表明本法精密度良好。

2.2.6 重复性试验 以拟定提取方法平行提取 5 份样品,制得供试液溶液,在所拟定色谱条件下分别进样 20 μL ,测得葛根素平均质量分数 $17.36 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.4%,结果表明本法重复性较好。

2.2.7 稳定性试验 对同一供试品溶液每隔 2 h 进样 1 次,依法测定,结果葛根素峰面积 RSD 0.6%,表明供试液在 12 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量的样品粉末 0.05 g,精密称定,精密加入一定量葛根素对照品,按拟定的方法测定,计算回收率,结果见表 1。

2.2.9 样品测定 分别取不同批号的样品 0.1 g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备供试液,进样

20 μL ,计算供试品的含量,结果 3 批活血养阴颗粒中葛根素分别为 17.36, 17.03, 17.69 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 1 葛根素加样回收率试验 ($n=6$)

称样 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.052 1	0.904 4	0.887 4	1.797 8	100.7		
0.053 0	0.920 1	0.887 4	1.811 0	100.4		
0.050 9	0.883 6	0.887 4	1.774 5	100.4	99.4	1.4
0.053 8	0.934 0	0.887 4	1.808 5	98.5		
0.051 1	0.887 1	0.887 4	1.747 7	97.0		
0.051 2	0.888 8	0.887 4	1.772 9	99.6		

3 讨论

益母草、葛根为本品中最主要的 2 味药,益母草中主要含有盐酸水苏碱等生物碱,葛根中主要含有葛根素等黄酮类化合物,本研究参考文献[1],建立了以上二味药的 TLC 鉴别方法,结果表明所建方法展开系统分离效果好,斑点清晰,专属性强,阴性对照无干扰。

本品为一多种中药配制而成的中药复方制剂,成分较为复杂,方中葛根为君药,故选定其主要活性成分葛根素作为含量测定指标,建立了 HPLC 含量测定方法^[2-3],方法学研究表明该法具有简便、灵敏、重现性好的特点,可以用于本制剂的质量控制。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:204,234.
- [2] 饶毅,魏惠珍,崔金国,等. HPLC 法同时测定心可舒制剂中葛根素和丹酚酸 B 的含量[J]. 药物分析杂志, 2007. 27(9):1431.
- [3] 张朝波,贾树田,张现涛,等. HPLC 测定脉络通胶囊中葛根素的含量[J]. 中成药,2007,29(10):1546.

[责任编辑 蔡仲德]