

## 慢肝康丸的质量标准研究

施钧瀚<sup>1</sup>, 牛晓静<sup>1</sup>, 孙明明<sup>2</sup>

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河南中医学院药学院, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 建立慢肝康丸质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TCL)对慢肝康丸中的当归、白术、黄芪、柴胡进行定性鉴别; 用 HPLC 测定慢肝康丸中芍药苷的含量。结果: 薄层色谱鉴别法专属性强, 阴性无干扰; 芍药苷在 0.005 8 ~ 0.116 μg 线性关系良好, 得到回归方程  $Y = 1.07 \times 10^6 X - 7.79 \times 10^3$  ( $r = 0.999 9$ )。平均加样回收率为 98.6% ( $n = 6$ , RSD 1.19%)。结论: 方法简便, 灵敏度高, 结果准确, 可有效控制慢肝康丸的质量。

[关键词] 慢肝康丸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0042-03

## Quality standard for Mangankang Pills

SHI Jun-han<sup>1</sup>, NIU Xiao-jing<sup>1</sup>, SUN Ming-ming<sup>2</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;  
2. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish quality standard of Mangankang pills. **Method:** Angelica sinensis, Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, Astragali and Bupleurum were identified by TLC. The content of paeoniflorin of Paeonine Radix Alba in the Mangankang pills was determined by HPLC. **Result:** TLC method was specific for the identification of Angelica sinensis, Atractylodes, Astragalus and Bupleurum, and no interference was found for negatives. Paeoniflorin was linear in the range of 0.058 ~ 1.16 μg. The regression equation was  $Y = 1.07 \times 10^6 X - 7.78 \times 10^3$  ( $r = 0.999 9$ ). The average recovery was 98.6% ( $n = 6$ , RSD 1.19%). **Conclusion:** This method is convenient, accurate, higher sensitivity, and can be used for controlling the quality of Mangankang pills.

**[Key words]** Mangankang pills; TLC; HPLC; quality standard

慢肝康丸是我院医院制剂, 由当归、白芍、柴胡、百合、白术(炒)、黄芪等组成, 具有养血柔肝, 疏肝健脾之功能。临床用于血虚、肝气郁滞型慢性肝炎。

为了进一步完善该制剂质量标准, 本实验建立了高效液相色谱法测定芍药苷的含量, 并建立当归、黄芪、柴胡等药物的薄层鉴别方法。

### 1 材料

**1.1 仪器** 液相色谱仪系统 Waters 600 泵(美国), Waters CapLC2487 双吸光度检测器(美国), Waters 717plus 自动进样器(美国), Empower 色谱工

作站(美国), Sartorius CP225D 电子分析天平(德国)。

**1.2 试药** 阿魏酸对照品(0773-9910), 黄芪甲苷对照品(0781-9807), 柴胡皂苷 a 对照品(110777-200405), 柴胡皂苷 d 对照品(110778-200404), 白术对照药材(0925-200206), 均由中国药品生物制品检定所提供, 慢肝康丸(090617, 091030, 100305)及处方中药材由河南中医学院第一附属医院提供, 阴性样品按照处方工艺, 分别制得。磷酸、甲醇、乙腈为色谱醇、其他试剂均为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层鉴别

**2.1.1 当归** 取本品 3 g, 加 1% 的碳酸氢钠溶液 50 mL 超声 15 min, 滤过, 滤液用稀盐酸调 pH 2 ~ 3。

[收稿日期] 20100729(005)

[第一作者] 施钧瀚, 硕士, 中药师, 研究方向为中药制剂工艺及质量标准, Tel: 0371-66233639, E-mail: sjhx@126.com

用乙酸乙酯 15 mL 振摇提取 2 次,分取乙酸乙酯液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取阿魏酸对照品加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。再按处方取不含当归的其他药材,照本品工艺及上述方法制成阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验,吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu$ L,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,以石油醚-乙酸乙酯-甲酸(4 1 0.1) 为展开剂,点样,展开,取出,晾干,喷以新配制的 1% 三氯化铁和 1% 铁氰化钾(1 1) 的混合溶液<sup>[1]</sup>。供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性样品色谱则无此斑点。结果见图 1。

**2.1.2 黄芪** 取本品粉末 10 g,加甲醇 30 mL 超声 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 溶解,用乙酸乙酯 15 mL 振摇提取,分取水层,用水饱和的正丁醇萃取两次,每次 20 mL,合并正丁醇液,加 40 mL 氨试液,摇匀,放置分层,取上层液蒸干,残渣加 0.5 mL 甲醇使溶解作为供试品溶液,另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。再按处方取不含黄芪的其他药材,照本品工艺及上述方法制成阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验,吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu$ L,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-乙酸乙酯-甲醇-水(15 40 22 10) 为展开剂<sup>[2]</sup>,点样,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中在与对照品及对照药材色谱相应位置上显相同的颜色的斑点,阴性样品色谱则无此斑点。结果见图 2。

**2.1.3 白术** 取本品粉末 3 g,加乙酸乙酯 20 mL 超声 15 min,滤过,滤液浓缩至 1mL 作为供试品溶液。另取白术对照药材 3 g 同法制成对照药材溶液,再按处方取不含白术的其他药材,照本品工艺及上述方法制成阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验,吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu$ L,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,以石油醚(60 ~90  $^{\circ}$ C) 为展开剂,点样,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛磷酸溶液,加热至斑点显色清晰。供试品色谱中在与对照药材色谱相应位置

上显一相同桃红色斑点(苍术酮),阴性样品色谱则无此斑点。结果见图 3。

**2.1.4 柴胡** 另取柴胡皂苷 a 对照品和柴胡皂苷 d 对照品,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合溶液作为对照品溶液,再按处方取不含柴胡的其他药材,照本品工艺及 2.1.2 项下方法制成阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录

B) 试验,吸取 2.1.2 项下供试品溶液、柴胡皂苷对照品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上使成条状,以乙酸乙酯-乙醇-水(8 2 1) 为展开剂,点样,展开,取出,晾干,喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸溶液,在 60  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm) 下检视。供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性样品色谱则无此斑点。结果见图 4。

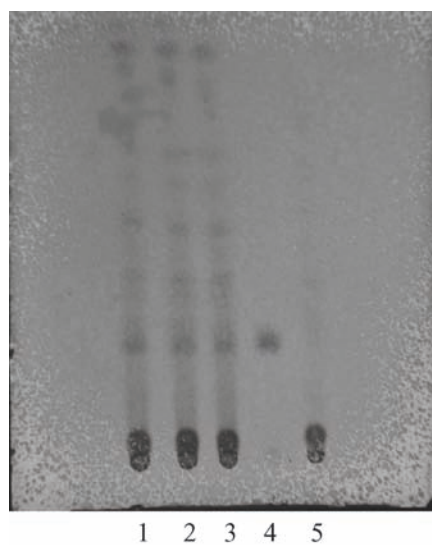


图 1 阿魏酸薄层鉴别图谱  
1, 2, 3. 供试品;  
4. 阿魏酸对照品; 5. 阴性

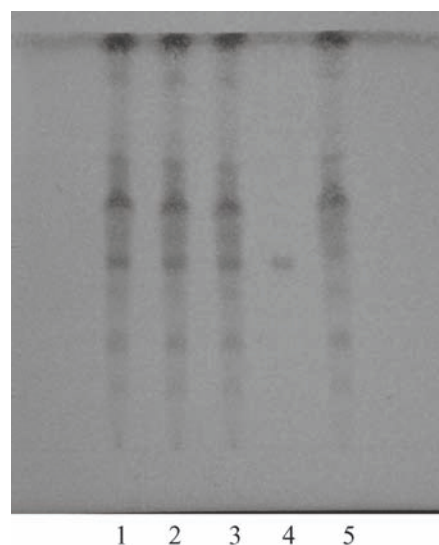


图 2 黄芪甲苷薄层鉴别图谱  
1, 2, 3. 供试品;  
4. 黄芪甲苷对照品; 5. 阴性

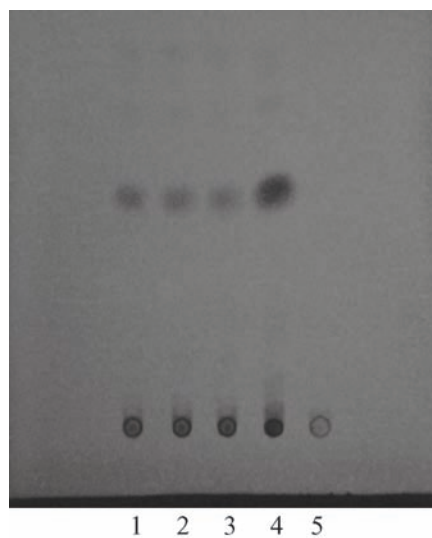


图 3 白术薄层鉴别图谱  
1, 2, 3. 供试品;  
4. 白术对照药材; 5. 阴性

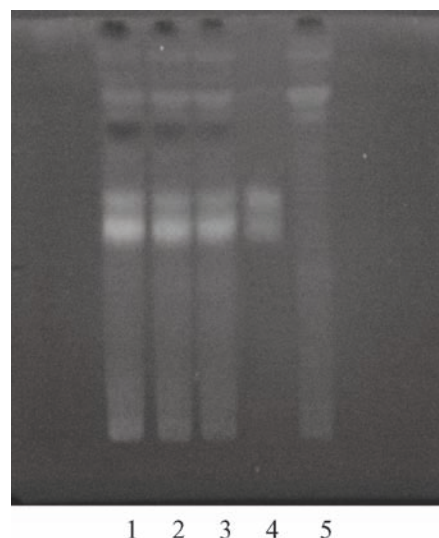


图 4 柴胡皂苷薄层鉴别图谱  
1, 2, 3. 供试品;  
4. 柴胡皂苷 a, d 对照品; 5. 阴性

## 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件**<sup>[1]</sup> 色谱柱 Waters Sunfire<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> 色

谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm);乙腈-0.1%磷酸(15:85)。检测波长 230 nm;柱温 30 ;流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样量 10 μL。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称定芍药苷对照品 2.90 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 0.058 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品研细,称取 0.2

g,精密称定,至 50 mL 量瓶中,加入稀乙醇 35 mL,超声提取 30 min,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.2.4 阴性干扰试验** 取不含白芍药材的阴性样品,再取按上述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、供试品溶液及阴性溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,绘制色谱图。见图 5。

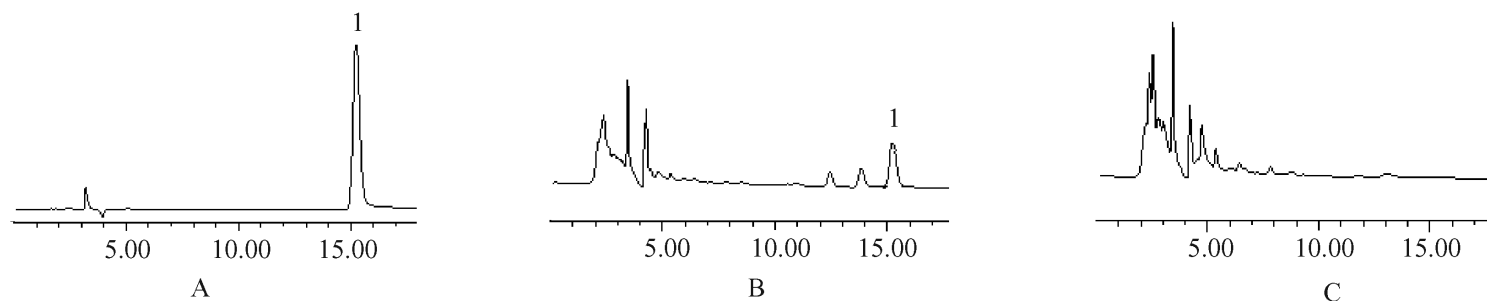


图 5 慢肝康丸 HPLC 色谱图

1. 芍药苷; A. 对照品; B. 慢肝康丸供试品; C. 缺白芍阴性

**2.2.5 线性关系考察** 取对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20 μL,按上述的色谱条件,注入液相色谱仪,测得峰面积,以对照品进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程  $Y=1.07 \times 10^6 X - 7.79 \times 10^3$  ( $r=0.9999$ ),表明芍药苷在 0.0058 ~ 1.16 μg 呈良好的线性关系。

**2.2.6 精密度试验** 精密称取慢肝康丸供试品溶液,重复进样 6 次,芍药苷峰面积的 RSD 0.3%。

**2.2.7 稳定性试验** 取慢肝康丸供试品溶液分别在 0, 2, 4, 8, 12 h 进样,测定芍药苷含量, RSD 1.9%。

**2.2.8 重复性试验** 精密称取同一慢肝康丸样品粉末 6 份,按 2.2.3 项下方法制备,分别进样,芍药苷含量的 RSD 2.1%。

**2.2.9 加样回收率试验** 取已知芍药苷含量的慢肝康丸样品(批号 100305)粉末 6 份,每份约 0.1 g,精密称定。分别置于锥形瓶中,各加入芍药苷对照品溶液 8 mL(0.058 g·L<sup>-1</sup>),按上述供试液的制备方法制备,按选定的色谱条件测定,计算回收率为 98.6%, RSD 1.19% ( $n=6$ )。结果见表 1。

表 1 慢肝康丸加样回收率试验结果 ( $n=6$ )

取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD /%
0.0986	0.446	0.464	0.911	100.2	98.6	1.19
0.1003	0.454	0.464	0.907	97.6		
0.1057	0.478	0.464	0.929	97.2		
0.0992	0.449	0.464	0.912	99.8		
0.0991	0.448	0.464	0.904	98.3		
0.0997	0.451	0.464	0.909	98.7		

**2.2.10 含量测定** 取 3 批样品,按上述 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,结果批号为 090617, 091030, 100305 的样品芍药苷含量分别为 4.122, 5.208, 4.524 mg·g<sup>-1</sup>。

### 3 讨论

对慢肝康丸中当归、白术、黄芪、柴胡进行薄层鉴别,斑点显色清晰,阴性无干扰;百合薄层鉴别,阴性样品有干扰,因此不作为检验标准。白术薄层鉴别用石油醚(60~90)-乙酸乙酯(50:1)为展开剂,显色后主斑点(苍术酮) Rf 过大,用石油醚(60~90)作为展开剂,桃红色主斑点 Rf 在 0.5~0.6。实验发现苍术酮不稳定,处理好的样品放置一天桃红色斑点即检测不出,因此样品处理好以后尽快点样。

用 HPLC 做芍药苷含量测定,按照《中国药典》2005 版一部赤芍项下含量测定方法,用甲醇处理的样品做含量测定,结果与稀乙醇处理样品含量测定结果相近,杂质峰相似,阴性无干扰,由于甲醇毒性较大,因此选用稀乙醇处理样品。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:571,69.
- [2] 陈建真,宋玉良,吕圭源.伤宁口服液质量标准的研究[J].中药新药与临床药理,2003,04:263.

[责任编辑 顾雪竹]