

健肾化瘀颗粒质量标准的研究

罗毅^{1*}, 程艳芹², 刘 强¹, 宋金春¹

(1. 武汉大学人民医院药学部, 湖北 武汉 430060; 2. 中国人民解放军海军 401 医院, 山东 青岛 266071)

[摘要] 目的: 建立健肾化瘀颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别健肾化瘀颗粒中的淫羊藿、黄芪, 采用 HPLC 法测定其中淫羊藿苷的含量。结果: 薄层色谱法可同时鉴别淫羊藿、黄芪, 薄层斑点清晰, 专属性强; 淫羊藿苷含量测定平均加样回收率为 99.3%, $RSD = 1.5\%$ ($n = 6$)。结论: 该方法简便、准确, 可用于控制制剂的质量。

[关键词] 健肾化瘀颗粒; 淫羊藿; 黄芪; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)12-0025-03

Study on Quality Standard of Jianshenhuayu Granules

LUO Yi^{1*}, CHENG Yan-qing², LIU Qiang¹, SONG Jin-chun¹

[收稿日期] 2006-03-27

[通讯作者] * 罗毅, Tel: (027) 88041911-8898; E-mail: luoyi6226@163.com

- (1. Department of Pharmacy, the Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;
2. No. 401 Hospital of Navy, Shandong Qingdao 266071, China)

[**Abstract**] **Objective:** To establish the quality standard for Jianshenhuayu Granules. **Methods:** Epimedii and Radix Astragali in the preparation were identified by TLC. The content of icariin was determined by HPLC. **Results:** Epimedii and Radix Astragali were identified on a plate simultaneously. The spots were clear and the identification was highly specific. The average recovery was 99.3% (*RSD* = 1.5%, *n* = 6). **Conclusion:** The method is simple, accurate and can be used for the quality control of Yishenhuayu Granules.

[**Key words**] Jianshenhuayu Granules; Epimedii; Radix Astragali; icariin; HPLC

健肾化瘀颗粒是以淫羊藿为君、黄芪为臣,配伍川芎、丹参等药味制成的中药复方制剂,具有益肾健脑、活血化瘀之功效,主要用于治疗肾虚血瘀型老年脑功能减退。为控制该制剂的质量,本文建立了方中主药淫羊藿和黄芪的薄层色谱定性鉴别方法及主要特征性有效成分淫羊藿苷的含量测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱系统(VWD 检测器,美国);淫羊藿苷对照品(含量测定用,批号 0737-200111)、黄芪甲苷对照品(含量测定用,批号 0781-200210)均购自中国药品生物制品检定所;健肾化瘀颗粒(本院中药药剂实验室研制);硅胶 H(化学纯,青岛市北区海化干燥剂厂);乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司);水(超纯水);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别 取本品 2.5 g,加乙醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 25 mL 溶解,滤过。取滤液,以乙醚萃取 2 次(15 mL/次),取水层挥至无乙醚味,用水饱和的正丁醇提取 3 次(15 mL/次),合并正丁醇液,以 1% 氢氧化钠溶液 15 mL 洗涤一次,取正丁醇层再以正丁醇饱和的水洗涤 2 次(15 mL/次),取正丁醇液回收溶剂至干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取淫羊藿苷对照品和黄芪甲苷对照品适量,分别加乙醇制成每 1 mL 约含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。另据本品制备工艺分别制备缺淫羊藿、缺黄芪的阴性样品,同供试品溶液制法制得缺淫羊藿、缺黄芪的阴性对照溶液。吸取上述供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L,两种对照品溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13:7:2)的下层液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ 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,相应的阴性无干扰。置 365 nm 紫外光灯下检视,可见明显的荧光斑点,相应的阴性无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m; Agilent); 流动相: 乙腈-水(26:74); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 室温; 理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 3 000。

2.2.2 供试品溶液制备 取本品,研细,取细粉约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加稀乙醇 20 mL,超声处理(功率 200 W,频率 59 kHz) 45 min,放置至室温,加稀乙醇定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 对照品储备液的制备 精密称取已于 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的淫羊藿苷对照品适量,加稀乙醇制浓度为 0.109 6 mg/mL 的对照品储备液。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品储备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL 置 25 mL 量瓶中,以稀乙醇稀释至刻度,摇匀,制得系列浓度的对照品溶液。分别精密吸取 20 μ L 进样,测定峰面积。以淫羊藿苷进样量(μ g)为横坐标、峰面积值为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为: $y = -2\,104.723\,7x - 16.077\,9$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明,淫羊藿苷进样量在 0.087 68~ 0.526 08 μ g 的范围内线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液 20 μ L,重复进样 6 次,测定峰面积, *RSD* 为 1.0%,表明本法精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一对照品溶液(17.536 μ g/mL),室温放置,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 时进样 20 μ L,测定,峰面积 *RSD* 为 0.8%,表明淫羊藿苷至少在 12 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批号样品,称取 6 份,

依法测定含量, *RSD* 为 1.5%。

2.2.8 阴性对照试验 取 2.1 项下缺淫羊藿的阴性样品, 按供试品溶液制法制得阴性对照溶液。分别吸取对照品溶液(17.536 μg/mL)、供试品溶液、阴性对照溶液各 20 μL 进样, 记录色谱图(图 1, 2, 3)。结果表明, 阴性对照液在淫羊藿苷色谱峰位置处无干扰。

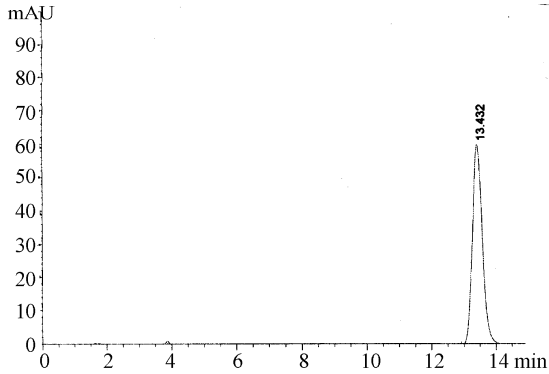


图 1 对照品高效液相色谱图

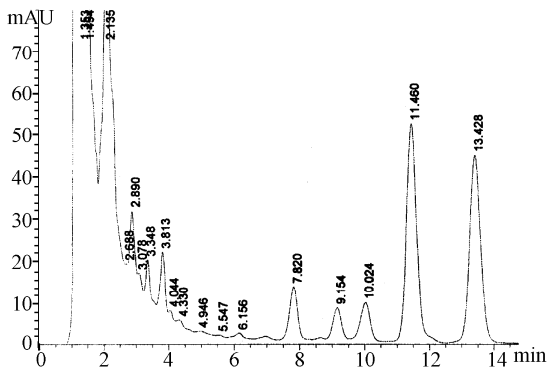


图 2 供试品高效液相色谱图

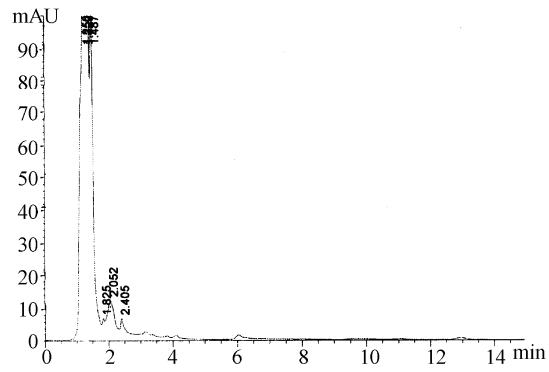


图 3 阴性对照高效液相色谱图

2.2.9 回收率试验 取已测知含量的样品(淫羊藿苷含量为 2.325 1 mg/g) 研细, 称取 6 份, 每份约 0.1 g, 置 25 mL 量瓶中, 分别精密加入淫羊藿苷对照品储备液 2 mL, 按供试品溶液制备方法制备并测定, 计算回收率, 结果见表 1。结果表明本法测定准确度高。

表 1 淫羊藿苷回收率试验结果

序号	取样量 (g)	样品中含量(mg)	对照品加入量(mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率(%)	<i>RSD</i> (%)
1	0.107 8	0.250 6	0.219 2	0.466 7	98.6		
2	0.094 0	0.218 6	0.219 2	0.432 8	97.7		
3	0.088 2	0.205 1	0.219 2	0.422 4	99.1	99.3	1.5
4	0.112 5	0.261 6	0.219 2	0.481 0	100.1		
5	0.092 1	0.214 1	0.219 2	0.437 4	101.9		
6	0.101 6	0.236 2	0.219 2	0.451 5	98.2		

2.2.10 样品含量测定 取 3 批样品, 依法测定, 采用外标法计算含量, 结果 3 批样品中淫羊藿苷含量分别为 2.613 4, 2.441 7, 2.293 8 mg/g, *RSD* 分别为 2.2%, 1.6%, 1.3%。

3 讨论

对于薄层色谱鉴别, 实验中采用硅胶 H 作为吸附剂, 可改善淫羊藿苷斑点的拖尾现象。实验中所采用的供试液制备方法可较大量地同时提取出淫羊藿和黄芪所含的指标成分, 杂质少, 使得在同一块薄层板上能同时鉴别这两种药材。本实验建立的薄层色谱鉴别方法, 操作简便、专属性强, 也为同时含淫羊藿、黄芪的其它制剂的定性质量控制研究提供了参考。

本实验选取方中君药淫羊藿所含有效成分淫羊藿苷进行含量测定。实验中对供试液的制备进行了方法学考察, 以稀乙醇为提取溶剂^[1], 经比较分别以回流提取法和超声法提取 15, 30, 45, 60 min 的提取效果, 结果两种方式提取效果基本一致, 本实验选取操作简便的超声法, 超声时间为 45 min 时提取最完全。有关淫羊藿药材和制剂中淫羊藿苷的含量测定报道较多^[2-4]。本实验所建立的含量测定方法简便、灵敏、准确, 可有效控制制剂的质量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 268.
- [2] 王明权, 毕至明, 李萍, 等. 高效液相色谱法测定淫羊藿中淫羊藿定 C 和淫羊藿苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(11): 1025.
- [3] 刘继军, 张玉英, 解彦炯, 等. 高效液相色谱法测定启阳片中淫羊藿苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(1): 90.
- [4] 赵东升, 王冰艳, 李银. 反相高效液相色谱法测定三肾丸中淫羊藿苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10): 1012.