

# 益肾康胶囊质量标准的研究

涂瑶生\*, 毕晓黎

(广东省中医研究所, 广东 广州 510095)

**[摘要]** 目的: 建立益肾康胶囊(黄芪、黑豆、当归、苍术)的质量标准。方法: 采用薄层鉴别法, 对益肾康胶囊中黑豆、当归、苍术进行定性鉴别; 采用薄层色谱扫描法测定了方中黄芪所含黄芪甲苷的含量。结果: 在 TLC 法中均能检出黑豆、当归、苍术; 黄芪甲苷在 0.54~4.32 $\mu$ g 范围内线性关系良好, 平均回收率为 97.14%, RSD 为 1.35%。结论: 该方法可准确地进行定性、定量检测, 可用于益肾康胶囊的质量控制。

**[关键词]** 益肾康胶囊; 质量标准; 黄芪甲苷; 薄层扫描法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)08-0016-03

益肾康胶囊由黄芪、黑豆、苍术、当归等药物组成, 具有滋肾健脾之功效。临床用于肾病综合症, 效果较好。为控制本制剂的内在质量, 根据处方中药物的性质进行了定性和定量研究, 对方中黑豆、苍术、当归进行了薄层鉴别试验, 并采用薄层色谱扫描法对方中黄芪所含黄芪甲苷建立了含量测定的方法。

## 1 仪器与试剂

瑞士 CAMAG TLC Scanner II 薄层色谱扫描仪; 瑞士 CAMAG Automatic TLC Sampler 4 全自动点样仪; 瑞

士 CAMAG REPROSTAR 3 薄层数码成像系统; 德国 Sartorius BP211D 电子分析天平。

益肾康胶囊(由广东省中医研究所制剂室提供); MERK 高效硅胶 G 薄层板; 黑豆药材(购于广州市药材公司, 为生产益肾康胶囊的同批样品); 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0781-200109)、苍术对照药材(中国药品生物制品检定所, 批号: 0983-9301)、当归对照药材(中国药品生物制品检定所, 批号: 0927-9705); 所用试剂均为分析纯。

## 2 定性鉴别

**2.1 黑豆的薄层色谱鉴别** 取胶囊内容物 2g, 加乙醇 10mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加少量水润湿, 用少量的聚酰胺吸附, 干燥, 加于聚酰胺

**[收稿日期]** 2005-12-05

**[通讯作者]** 涂瑶生, Tel: (020) 83576736; E-mail: tuyaos@21cn.com

**2.7 含量测定** 依法对 3 份槐米样品进行测定, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果( $n=3$ )

样品	序号	含量(%)			平均(%)	RSD(%)
芦丁	1	22.72	22.78	23.26	22.92	1.3
	2	23.54	23.78	24.32	23.88	1.7
	3	24.48	24.10	23.72	24.10	1.6
槲皮素	1	1.56	1.56	1.62	1.58	2.2
	2	1.53	1.58	1.57	1.56	1.7
	3	1.60	1.64	1.68	1.64	2.4

## 3 讨论

本法分离选择性好, 分离效率高, 能很好地分离槐米中的黄酮类成分芦丁和槲皮素。由于微乳液的

增敏作用, 方法的灵敏度高, 能同时对槐米中的芦丁和槲皮素进行含量测定。本文建立了一种新的同时测定槐米中的芦丁和槲皮素的薄层色谱扫描法, 方法简便、快速、准确。

## [参考文献]

- [1] 梁生旺. 中药制剂定量分析[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997. 397-399.
- [2] 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, 2005. 247.
- [3] 王朝周, 程秀民. 薄层扫描法测定槐米中芦丁含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(4): 21-22.
- [4] 徐雄良, 张志荣, 柯尊洪, 等. RP-HPLC 法测定槐米中槲皮素的含量[J]. 中草药, 2003, 34(6): 565-567.

树脂柱(80~100目,4g,内径15mm)上,先以水100mL洗脱,弃去水液,继以乙醇100mL洗脱,收集乙醇洗脱液,蒸干,残渣加甲醇2mL使溶解,作为供试品溶液。另取黑豆药材3g,加乙醇10mL,同法制成药材溶液。再按处方比例,取缺黑豆的其他各味药,按制备工艺加工制成阴性样品,按供试品制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各5 $\mu$ L,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以内酐-丁酐-甲酸(10:7:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%三氯化铝乙醇溶液,热风吹干。置紫外光灯(254nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰。

**2.2 苍术的薄层色谱鉴别<sup>[1]</sup>** 取胶囊内容物3g,加正己烷10mL,超声处理20min,滤过,滤液挥干,残渣加正己烷1mL使溶解,作为供试品溶液。另取苍术对照药材1g,加正己烷10mL,同法制成对照药材溶液。再按处方比例,取缺苍术的其他各味药,按制备工艺加工制成阴性样品,按供试品制备方法制成阴性对照溶液。吸取供试品溶液和阴性对照溶液各10 $\mu$ L,对照药材溶液4 $\mu$ L,分别点于同一高效硅胶G薄层板上,以石油醚-醋酸乙酯(10:1)为展开剂,展至约6cm,取出,晾干,再以正己烷为展开剂,展至约8cm,取出,晾干,喷以5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液,105℃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的位置上,显相同颜色(污绿色)的斑点,阴性无干扰。

**2.3 当归的薄层色谱鉴别<sup>[2]</sup>** 取胶囊内容物2g,加乙醇10mL,超声处理20min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取当归对照药材1g,加乙醇10mL,同法制成对照药材溶液。再按处方比例,取缺当归的其他各味药,按制备工艺加工制成阴性样品,按供试品制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各20 $\mu$ L,分别点于同一高效硅胶G薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色(亮蓝白色)的荧光斑点,阴性无干扰。

### 3 黄芪甲苷的含量测定<sup>[3]</sup>

**3.1 薄层色谱条件** 层析板:MERK 高效硅胶G薄层板;展开剂:氯仿-甲醇-水(13:6:2)10℃以下放置的下层溶液;展距:8cm;显色剂:10%硫酸乙醇溶液,105℃烘约5min;扫描波长 $\lambda_s=530\text{nm}$ ,狭缝:0.4×

0.4mm, SX=3。

**3.2 对照品溶液的制备** 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每mL含0.54mg的溶液,作为对照品溶液。

**3.3 供试品溶液的制备** 取胶囊内容物约3g,研细,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇40mL,浸泡过夜,再加入甲醇25mL,回流提取至甲醇液无色,提取液蒸干,残渣加水20mL溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取4次(30、20、20、20mL),合并正丁醇提取液,用1%NaOH溶液洗2次,每次20mL,弃去碱液,继用正丁醇饱和的水洗至中性,正丁醇液蒸干,残渣加水3~5mL使溶解,放冷,通过已处理好的D<sub>101</sub>型大孔吸附树脂柱(内径1.5cm,长12cm),以水50mL洗脱,弃去水液,再用40%的乙醇30mL洗脱,弃去40%乙醇洗脱液,继用70%的乙醇80mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至2mL容量瓶内,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

**3.4 线性关系考察** 分别精密吸取对照品溶液(0.54mg·mL<sup>-1</sup>)1、2、4、6、8 $\mu$ L,分别点于同一高效硅胶G薄层板上,按拟定条件展开,显色后置扫描仪上进行测定。以对照品量为横坐标X,斑点峰面积积分为纵坐标Y,进行线性回归,回归方程为:Y=2123+3378X, r=0.9907。结果表明,黄芪甲苷在0.54~4.32 $\mu$ g范围内线性关系良好。

**3.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液在同一高效硅胶G薄层板上点6个点,每个点4 $\mu$ L,展开显色后测定,黄芪甲苷峰面积积分值RSD=1.2%;精密对照品溶液4 $\mu$ L,在不同高效硅胶G薄层板上点6个点,每个点4 $\mu$ L,展开,显色后测定,RSD=1.3%,说明同板及异板精密度良好。

**3.6 稳定性试验** 吸取对照品溶液4 $\mu$ L,点于高效硅胶G薄层板上,展开显色后每隔30min扫描一次,结果表明峰面积在2h内稳定,RSD=1.2%。

**3.7 重复性试验** 取同一批样品5份,分别制备供试品溶液,测定含量。平均含量为0.1863mg·g<sup>-1</sup>,RSD=4.05%(n=5)。

**3.8 阴性干扰试验** 按处方比例,取缺黄芪的其他各味药,按制备工艺加工制成阴性样品,按供试品的制备方法制备成阴性对照溶液,与供试品液、黄芪甲苷对照品溶液分别点于同一高效硅胶G薄层板上,按上述方法进行薄层层析与色谱扫描。结果阴性对照溶液对黄芪甲苷峰不存在干扰(见图1)。

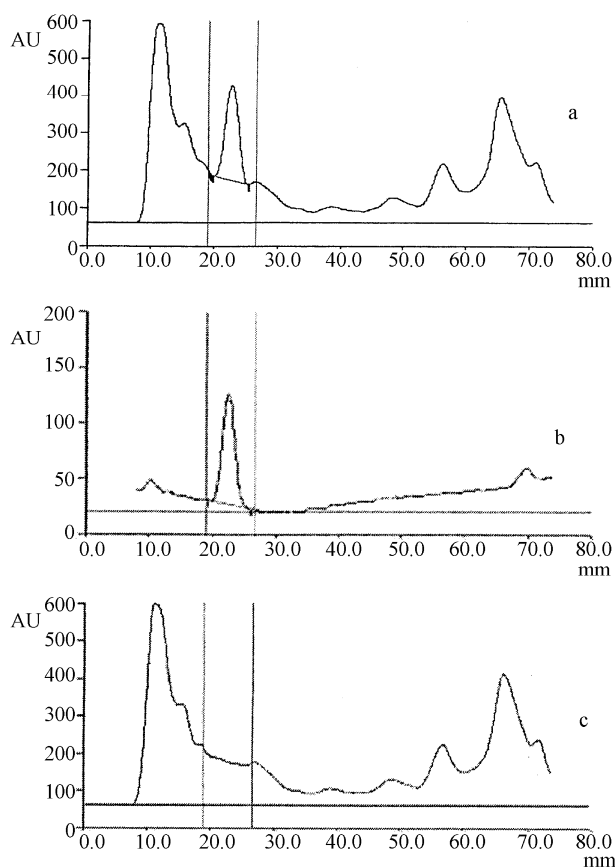


图 1 益肾康胶囊薄层扫描图

a 益肾康胶囊 b 黄芪甲苷对照品 c 阴性对照

**3.9 加样回收率试验** 精密称取已知含量的同一批号样品,精密添加一定量黄芪甲苷对照品,依上述方法测定,结果平均回收率为 97.14%,RSD= 1.35% (n= 6),结果见表 1。

**3.10 样品测定** 精密吸取供试品溶液 10 $\mu$ L,对照品溶液 2 $\mu$ L、5 $\mu$ L,分别交叉点于同一高效硅胶 G 薄层板上,按上述方法展开,扫描。分别测量对照品溶液与供试品溶液吸收度积分值,以外标两点法计算,即得。结果见表 2。

表 1 益肾康胶囊中黄芪甲苷的回收率测定

编号	样重 (g)	样品中 黄芪甲 黄芪甲			回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
		黄芪甲 苷的量 (mg)	苷的加 入量 (mg)	苷的检 出量 (mg)			
1	1.5657	0.2923	0.2700	0.5590	98.7	97.1	1.3
2	1.5582	0.2909	0.2700	0.5520	96.7		
3	1.5567	0.2906	0.2700	0.5564	98.4		
4	1.5523	0.2898	0.2700	0.5474	95.4		
5	1.5625	0.2917	0.2700	0.5546	97.3		
6	1.5531	0.2900	0.2700	0.5496	96.1		

表 2 样品中黄芪甲苷含量测定结果(n= 3)

批号	黄芪甲苷含量(mg/粒)
050308	0.081
050315	0.086
050322	0.084

#### 4 讨论

黑豆属药典未收载的品种,本文建立了黑豆的薄层鉴别方法。曾采用不过聚酰胺柱的提取液作供试品进行鉴别,但由于本制剂含有大量水溶性色素,使色谱背景干扰严重,故采用聚酰胺吸附黑豆中黄酮类成分,用水洗去色素等水溶性干扰成分,然后用乙醇洗脱得到黄酮类成分,达到净化样品的目的,使背景干扰大为减少。

本制剂由多味药物组成,由于黄芪甲苷的含量较低,干扰成分多,且硫酸显色后的背景干扰大。经过多种提取溶媒的比较,以水饱和正丁醇最佳,样品再经 1% 的氢氧化钠溶液和正丁醇饱和的水洗涤,以及柱层析的纯化,背景干扰可降到最低限度,可作为含有黄芪药材复方制剂的含量测定方法。

已有许多文献<sup>[4-6]</sup>报道关于采用薄层色谱扫描法测定黄芪甲苷含量,但多使用日本岛津 CS-9XX 系列薄层扫描仪,采用双波长法进行测定。本实验采用瑞士 CAMAG TLC Scanner II 型薄层扫描仪,由于该机具有自动校正背景功能,因而未设置参比波长。

#### [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. 249.
- [2] 吕武清,尤新华. 中成药中的药材薄层色谱鉴别[M]. 北京:人民卫生出版社,1997. 215.
- [3] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,1997. 624.
- [4] 常增荣,张小茜,周富荣. 薄层扫描法测定黄芪及制剂中芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志,1995,20(8): 482.
- [5] 王荣,赵兴红,胡晓丽. 高效薄层扫描法测定愈肝扶正胶囊中黄芪甲苷含量[J]. 中国药学杂志,1999,34(2): 114-116.
- [6] 齐瑗晶,高尚先,薛克亮,等. 催乳颗粒中黄芪甲苷的含量测定[J]. 药物分析杂志,2000,20(4): 270.