

# 参黄补虚颗粒质量标准的建立

王隶书<sup>1</sup> 程东岩<sup>1\*</sup> 高军<sup>1</sup> 陈昕<sup>2</sup> 王超楠<sup>2</sup>

(1.吉林省中医药科学院 长春 130012 2.长春中医药大学 长春 130117)

**摘要:** 目的: 建立参黄补虚颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对组方中人参、醋五味子进行定性鉴别; 采用 HPLC 法对制剂中黄芪甲苷进行含量测定。结果: 薄层斑点清晰, 分离度好, 阴性无干扰; 黄芪甲苷在 0.2156~3.4496 μg 范围内线性关系良好 ( $r = 0.9993$ ), 平均加样回收率为 99.9%, RSD=1.89% (n=6)。结论: 本方法简便、准确、专属性强, 可用于参黄补虚颗粒的质量控制。

**关键词:** 参黄补虚颗粒; 质量标准; 黄芪甲苷

参黄补虚颗粒是由本课题组开发的中药3.2类新药, 由黄芪、人参、醋五味子、甘草、丹参、肉桂六味中药组成, 具有益气温阳、生津养血、行滞通痹之功, 主治虚损劳伤、元气不足, 症见倦怠乏力、少气畏寒等。为了有效地控制该制剂质量, 本试验采用TLC法对方中人参、醋五味子进行了定性鉴别, 同时采用HPLC-ELSD法测定了制剂中黄芪甲苷的含量。现将试验过程及结果报道如下:

## 1 仪器与试药

LC-10AT VP 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SECURA125-1CN 电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); KQ-5200DE 液晶超声波清洗器 (昆山洁力美超声仪器有限公司); ZF-6 三用紫外分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司)。

参黄补虚颗粒自制, 规格: 5g/袋; 所有标准物质均购于中国食品药品检定研究院; 水为重蒸馏水, 乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

2.1.1 人参取本品 5g, 研细, 加乙醚 40ml, 超声处理 20 分钟, 滤过, 药渣加乙酸乙酯 40ml, 超声处理 20 分钟, 滤过, 药渣加水饱和正丁醇 40ml, 超声处理 20 分钟, 滤过, 滤液用氨试液洗涤 2 次, 每次 40ml, 弃去氨试液, 正丁醇液蒸

干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取人参对照药材 1g, 加三氯甲烷 40ml, 超声处理 30 分钟, 滤过, 弃去滤液, 药渣加水饱和正丁醇 40ml, 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液用氨试液洗涤 2 次, 每次 40ml, 弃去氨试液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 3ml 使溶解, 作为对照药材溶液。再取人参皂苷 R<sub>g</sub>、人参皂苷 R<sub>e</sub>、人参皂苷 R<sub>b</sub> 对照品, 加甲醇制成每 1ml 分别含上述对照品 0.5mg、1mg、1mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。取缺人参的阴性样品 5g, 同法制备缺人参阴性样品溶液。吸取上述四种溶液各 5 μl, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水 (65: 35: 10) 10 °C 以下放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰, 分别置日光和紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应位置上, 分别显相同颜色的斑点或荧光斑点, 且阴性无干扰, 结果见图 1。

2.1.2 醋五味子 取本品 5g, 研细, 加三氯甲烷 40ml, 超声处理 20 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取五味子对照药材 0.5g, 同法制成对照药材溶液。再取五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲对照品, 加乙酸乙酯制成每 1ml 分别含上述对照品 0.5mg、0.5mg、1mg 的混合溶液, 作为对照

品溶液。取缺醋五味子的阴性样品 5g, 同法制备缺醋五味子阴性样品溶液。吸取上述四种溶液各 3 μl, 分别点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-冰醋酸 (23: 6: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (254nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和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, 结果见图 2。

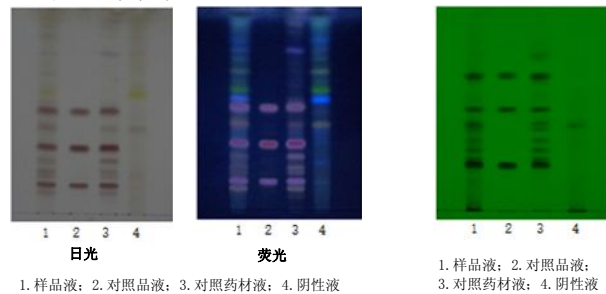


图 1 人参 TLC 鉴别

### 2.2 含量测定<sup>[1-2]</sup>

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent ZORBAX 300SB C<sub>18</sub> 柱 (4.6mm × 250mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (34: 66); 流速: 0.8ml · min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C; 蒸发光散射检测器检测。

#### 2.2.2 溶液的制备

2.2.2.1 对照品溶液的制备取黄芪甲苷对照品适量, 精密称定, 加 80% 甲醇制成每 1ml 含 80 μg 的溶液, 即得。

2.2.2.2 供试品溶液的制备取本品适量, 研细, 取约 3g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入含 4% 浓氨试液的 80% 甲醇溶液 50ml, 密塞, 称定重量, 加热回流 1 小时, 放冷, 再称定重量, 用含 4% 浓氨试液的 80% 甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20ml, 蒸干, 残渣用 80% 甲醇溶解, 转移至 10ml 量瓶中, 加 80% 甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.2.3 阴性样品溶液的制备 取不含黄芪的阴性制剂, 按 2.2.2.2 项下方法制成缺黄芪阴性样品溶液。

2.2.3 专属性实验 分别精密吸取阴性样品液、供试品溶液、黄芪甲苷对照品液各 10 μl, 按 2.2.1 项下条件进样测定, 结果在黄芪甲苷对照品色谱峰相应的保留时间处, 阴性样品无色谱峰出现, 说明阴性样品不干扰检出。

#### 2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性关系的考察 精密称取黄芪甲苷对照品 4.45mg, 置 10ml 量瓶中, 加 80% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

精密吸取对照品溶液 0.1ml、0.2ml、0.4ml、0.8ml、1.2ml、1.6ml,

分别置 2ml 量瓶中,加 80%甲醇稀释至刻度,摇匀,作为系列对照品溶液。分别吸取上述六份对照品溶液各 10 $\mu$ l,按选定色谱条件进样测定。以进样量( $\mu$ g)的自然对数为横坐标,峰面积积分值的自然对数为纵坐标绘制标准曲线,回归方程为  $Y=13.5195+1.5955X$ ,  $r=0.9993$ ,线性范围在 0.2156 $\mu$ g~3.4496 $\mu$ g 之间。

2.2.4.2 精密度及供试液稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 $\mu$ l,依选定方法于不同时间重复进样测定 6 次,  $RSD=1.42\%$  ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好,供试品溶液在 24h 内稳定。

2.2.4.3 重复性试验 精密称取同一批号样品 6 份,按选定方法制备 6 份供试液,进样测定,结果黄芪甲苷平均含量为 2.183mg/袋,  $RSD=1.87\%$  ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.2.4.4 加样回收率试验 取已知含量的样品 6 份,分别定量加入黄芪甲苷对照品溶液(折算量 1.354mg/ml) 1ml,依选定测定方法操作,进样测定(进样量为 5 $\mu$ l),结果平均回收率为 99.9%,  $RSD=1.89\%$  ( $n=6$ ),故认为用此方法测定制剂中黄芪甲苷含量完全

可行。

#### 2.2.5 样品含量测定

依选定方法,对五批样品中的黄芪甲苷含量进行测定,结果含量分别为 2.111、2.011、2.183、2.352、2.576mg/袋。

#### 3 结论

综上所述,本试验建立的方法简便易行,专属性强,可用于控制参黄补虚颗粒的内在质量。

#### 参考文献

[1]陈骁勇,葛玉松.HPLC-ELDS 法测定参芪五味子片中黄芪甲苷和酸枣仁皂苷 A 的含量[J].中国药师,2012,15(12):1743-1745

[2]章春宇,庄程,商量.养血饮口服液的质量标准[J].中国药师,2015,18(3):506-507,522

基金项目:吉林省科技发展计划项目(项目编号:20200404073YY)

通讯作者:程东岩