

复方洋参归地丸的质量控制研究

李慧峰¹, 孟 霜², 裴妙荣^{1*}

1. 山西中医学院, 山西 太原 030024

2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 建立复方洋参归地丸的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法对制剂中当归、川芎、何首乌、石菖蒲、黄芪进行定性鉴别; 采用高效液相色谱-蒸发光散射 (HPLC-ELSD) 法测定人参皂苷 Rb_1 。**结果** 薄层色谱鉴别的色谱斑点清晰, 阴性对照无干扰。人参皂苷 Rb_1 在 1.832~18.320 μg 呈良好的线性关系, 平均回收率为 100.06%, RSD 为 1.69% ($n=6$)。**结论** 所建立的方法简便可行, 专属性强, 重现性好, 可用于复方洋参归地丸的质量控制。

关键词: 复方洋参归地丸; 当归; 川芎; 何首乌; 石菖蒲; 黄芪; 薄层色谱; 人参皂苷 Rb_1 ; 高效液相色谱-蒸发光散射

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2012)01-0031-04

Quality control of Compound Yangshen Guidi Pills

LI Hui-feng¹, MENG Shuang², PEI Miao-rong¹

1. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China

2. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To establish the quality control methods for Compound Yangshen Guidi Pills. **Methods** The method of TLC was used to qualitatively identify *Angelicae Sinensis Radix*, *Chuanxiong Rhizoma*, *Polygoni Multiflori Radix*, *Acori Tatarinowii Rhizoma*, and *Astragali Radix*. The content of ginsenoside Rb_1 was determined by HPLC-ELSD. **Results** All herbal drugs in Compound Yangshen Guidi Pills were well identified by TLC and the spots were clear and without interference. The linear range of ginsenoside Rb_1 was 1.832—18.320 μg , with the average recovery of 100.06%, and the RSD of 1.69% ($n=6$). **Conclusion** The established method is simple, feasible, and can be used for the quality control of Compound Yangshen Guidi Pills.

Key words: Compound Yangshen Guidi Pills; *Angelicae Sinensis Radix*; *Chuanxiong Rhizoma*; *Polygoni Multiflori Radix*; *Acori Tatarinowii Rhizoma*; *Astragali Radix*; TLC; ginsenoside Rb_1 ; HPLC-ELSD

复方洋参归地丸为山西中医学院附属医院制剂, 由当归、川芎、黄芪、何首乌、石菖蒲、西洋参、熟地黄等多味中药组成, 具有补益肝肾, 强身健体的功用, 临床用于肝肾阴虚, 腰膝无力, 羸弱易感等, 疗效确切。为了控制该制剂的质量, 本实验采用薄层色谱法对制剂中的当归、川芎、何首乌、石菖蒲、黄芪进行定性鉴别; 采用高效液相色谱-蒸发光散射 (HPLC-ELSD) 法对制剂中人参皂苷 Rb_1 进行定量分析。

1 仪器与试剂

美国 Waters 2695 高效液相色谱仪, Alltech 2000ES 蒸发光散射检测器; 十万分之一天平 (梅特

勒公司); EL204 万分之一天平 (上海精密仪器有限公司)。

人参皂苷 Rb_1 对照品 (批号 110704-200318)、当归对照药材 (批号 120927-200411)、川芎对照药材 (批号 120918-200406)、大黄素对照品 (批号 110781-200311)、石菖蒲对照药材 (批号 121097-2004)、黄芪甲苷对照品 (批号 11078-200311) 均购自中国药品生物制品检定所。复方洋参归地丸, 批号为 090922、090924、090926, 自制。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

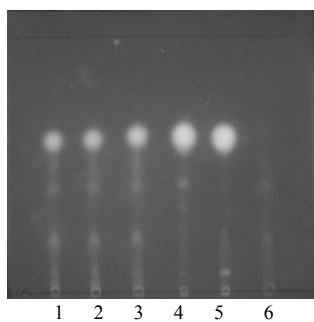
2.1 当归、川芎的薄层色谱鉴别

收稿日期: 2011-11-24

作者简介: 李慧峰 (1985—), 男, 山西阳泉人, 助教, 硕士, 2011 年 7 月毕业于黑龙江中医药大学, 研究方向为中药化学。Tel: (0351)2272180
E-mail: lihuifeng2046@163.com

*通讯作者 裴妙荣, 女, 教授, 山西中医学院中药学院院长, 研究方向为方剂化学。Tel: (0351)2272180 E-mail: peimr602@163.com

取本品 10 g, 研细, 加甲醇 30 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取当归、川芎对照药材各 0.5 g, 分别同法制成对照药材溶液。再取缺当归、川芎的阴性样品 10 g, 同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 4 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 - 醋酸乙酯 (4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯 (365 nm) 下检视^[1-2]。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, 图谱清晰, 阴性无干扰。见图 1。



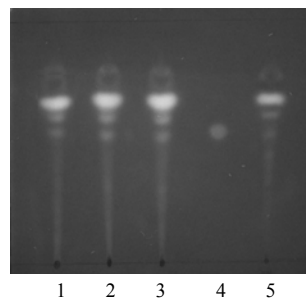
1~3-复方洋参归地丸 4-当归对照药材 5-川芎对照药材 6-阴性对照
1—3-Compound Yangshen Guidi Pills 4-Angelicae Sinensis Radix reference drug 5-Chuanxiong Rhizoma reference drug 6-negative sample

图 1 复方洋参归地丸中当归、川芎的 TLC 图

Fig. 1 TLC Chromatograms of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma* in Compound Yangshen Guidi Pills

2.2 何首乌的薄层色谱鉴别

取本品 10 g, 研细, 加 2.5 mol/L 硫酸 30 mL, 再加氯仿 30 mL, 加热回流 30 min, 离心, 取上清液置分液漏斗中, 分取氯仿层, 蒸干, 残渣加氯仿 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取大黄素对照品, 加甲醇制成 0.5 μ g/mL 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺何首乌的阴性样品 10 g, 同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以己烷 - 醋酸乙酯 - 甲醇 (30:10:0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视^[3-4]。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, 图谱清晰, 阴性无干扰。见图 2。



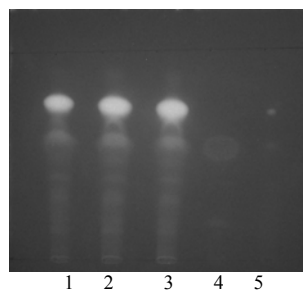
1~3-复方洋参归地丸 4-大黄素对照品 5-阴性对照
1—3-Compound Yangshen Guidi Pills 4-emodin reference substance 5-negative sample

图 2 复方洋参归地丸中何首乌的 TLC 图

Fig. 2 TLC chromatograms of *Polygoni Multiflori Radix* in Compound Yangshen Guidi Pills

2.3 石菖蒲的薄层色谱鉴别

取本品 10 g, 研细, 加石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C) 20 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C) 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取石菖蒲对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。取缺石菖蒲的阴性样品 10 g, 同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C) - 醋酸乙酯 (4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视^[1]。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, 图谱清晰, 阴性无干扰。见图 3。



1~3-复方洋参归地丸 4-石菖蒲对照药材 5-阴性对照
1—3-Compound Yangshen Guidi Pills 4-Acori Tatarinowii Rhizoma reference drug 5-negative sample

图 3 复方洋参归地丸中石菖蒲的 TLC 图

Fig. 3 TLC chromatograms of *Acori Tatarinowii Rhizoma* in Compound Yangshen Guidi Pills

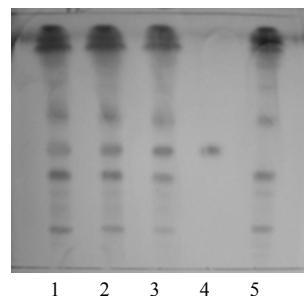
2.4 黄芪的薄层色谱鉴别

取本品 10 g, 研细, 加甲醇 30 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用

水饱和正丁醇振摇提取 2 次, 每次 15 mL, 合并正丁醇液, 用氨水萃取 2 次, 每次 15 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺黄芪的阴性样品 10 g, 同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-水(13:7:2)的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 的硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰^[5-6]。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, 图谱清晰, 阴性无干扰。见图 4。

2.5 人参皂苷 Rb₁ 的 HPLC-ELSD 法测定

2.5.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相乙腈-水(30:70); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; ELSD 参数: 漂



1~3-复方洋参归地丸 4-黄芪甲苷对照品 5-阴性对照
1—3-Compound Yangshen Guidi Pills 4-astragaloside IV reference substance 5-negative sample

图 4 复方洋参归地丸中黄芪的 TLC 图

Fig. 4 TLC chromatograms of *Astragali Radix* in Compound Yangshen Guidi Pills

移管温度 110 $^{\circ}$ C, 载气流量 2.1 L/min。理论塔板数按人参皂苷 Rb₁ 计算不低于 5 000。样品溶液分离良好, 阴性对照无干扰, 见图 5。

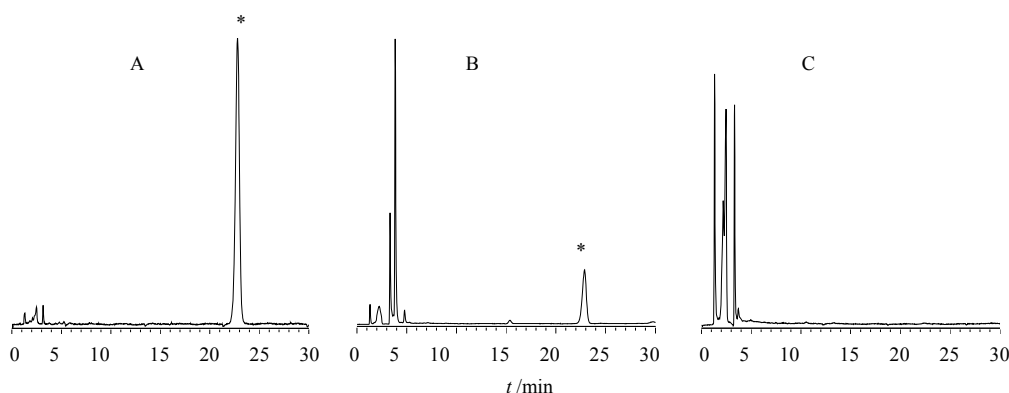


图 5 人参皂苷 Rb₁ (A)、复方洋参归地丸 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 5 HPLC Chromatograms of ginsenoside Rb₁ reference substance (A), Compound Yangshen Guidi Pills (B), and negative sample (C)

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rb₁ 对照品适量, 加甲醇制成 0.916 mg/mL 的溶液, 摇匀, 即得。

2.5.3 供试品溶液的制备^[1] 取本品适量, 研细, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水饱和正丁醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(150 W, 40 kHz) 45 min, 放冷, 再称定质量, 用水饱和正丁醇补足减失的质量, 滤过, 精密量取 25 mL, 置分液漏斗中, 用氨试液充分洗涤 2 次, 每次 25 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 并定量转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μ m) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.5.4 标准曲线的制备 分别精密量取 0.916 mg/mL 人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6、2.0 mL, 置 2 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。按上述色谱条件, 分别精密吸取 20 μ L 测定其峰面积。以进样量的常用对数为横坐标, 峰面积的常用对数为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=1.4529X+6.0362$, $r=0.9999$ 。结果表明人参皂苷 Rb₁ 在 1.832~18.320 μ g 与峰面积的线性关系良好。

2.5.5 精密度试验 取 0.916 mg/mL 人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定人参皂苷 Rb₁ 的峰面积积分值, 计算, 结果其 RSD 为 2.18%。

2.5.6 稳定性试验 取批号 090922 样品制备的同一供试品溶液,按上述色谱条件分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样,测定人参皂苷 Rb_1 的峰面积积分值,计算,结果其 RSD 为 2.06%。结果表明,人参皂苷 Rb_1 在 12 h 内稳定性良好。

2.5.7 重现性试验 精密称取批号 090922 的样品 6 份,制备供试品溶液,按上述色谱条件进样,测定人参皂苷 Rb_1 的峰面积积分值,计算,结果人参皂苷 Rb_1 的质量分数为 1.62 mg/g, RSD 为 1.72%。

2.5.8 加样回收率试验 精密称取批号 090922 样品 6 份,每份约 1 g,分别精密加入人参皂苷 Rb_1 对照品 1.702 mg,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定人参皂苷 Rb_1 的峰面积积分值,计算加样回收率。结果平均加样回收率为 100.06%, RSD 为 1.69%。

2.5.9 样品测定 取 3 批样品,分别制得供试品溶液,精密吸取人参皂苷 Rb_1 对照品溶液 5、10 μ L,供试品溶液 20 μ L,注入液相色谱仪,按照上述色谱条件进行测定,采用外标两点法回归方程计算人参皂苷 Rb_1 的质量分数。结果见表 1。

表 1 复方洋参归地丸中人参皂苷 Rb_1 的测定结果 ($n=2$)
Table 1 Determination of ginsenoside Rb_1 in Compound Yangshen Guidi Pills ($n=2$)

批 号	人参皂苷 Rb_1 /(mg·g ⁻¹)
090922	1.62
090924	1.66
090926	1.41

3 讨论

由于该制剂中含有当归、川芎药材,且都含有挥发油、阿魏酸等相同成分,两者的薄层色谱斑点交叉严重,不易分开鉴别,所以将两者列在一起同时鉴别。

何首乌的薄层色谱定性鉴别过程中,曾选用二苯乙烯苷作为对照,但因为该制剂所含药味较多,干扰较大,且二苯乙烯苷类成分见光易分解,稳定性差。以大黄素为对照,图谱清晰,稳定性好,可以作为何首乌鉴别的依据。

西洋参为本制剂处方的君药,且又属于贵重药材,所以选择测定其所含的有效成分人参皂苷 Rb_1 作为质量控制的指标。曾按《中国药典》2010 年版一部西洋参项下的测定方法,在紫外检测器 203 nm 波长下测定,因人参皂苷类成分为末端吸收,图谱基线噪音较大,加之本处方药味有 20 余种之多,成分复杂,干扰严重,达不到理想的分离效果,故改用蒸发光散射检测器检测。蒸发光散射检测器为通用质量型检测器,其响应不依赖样品的光学性质,基线噪音小^[7]。人参皂苷 Rb_1 质量较大,其挥发性低于流动相的挥发性,采用 HPLC-ELSD 法测定,方法的精密性、回收率均符合要求,适合该制剂的测定。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 124, 85, 8.
- [2] 李 乔, 肖 斌, 张春玲, 等. 沈阳红药气雾剂的质量标准 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(4): 302-306.
- [3] 吴 炜. 化浊轻身颗粒的质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 24-26.
- [4] 浦香兰, 许 枫. 金丹颗粒的质量标准研究 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(3): 168-171.
- [5] 尤献民, 邹桂欣. 乳康平颗粒剂中赤芍、当归及黄芪的薄层鉴别 [J]. 时珍国药研究, 1997, 8(4): 333.
- [6] 侯 峰, 施 法, 孙晓军, 等. 寒湿痹颗粒的质量控制研究 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 495-498.
- [7] 赵宇新, 李曼玲. 蒸发光散射检测器在中药成分分析中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(10): 913-917.