

安肾丸的质量控制研究

王 敏¹, 马玉梅²

1. 安顺职业技术学院 应用医药系, 贵州 安顺 561000

2. 深圳市泰康制药有限公司, 广东 深圳 518110

摘要: **目的** 为了更好的控制产品质量, 建立安肾丸的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法对制剂中的肉苁蓉、补骨脂、白术进行了定性鉴别, 并采用高效液相色谱法测定苦杏仁苷。**结果** 薄层色谱中的特征斑点明显。苦杏仁苷在 10.25~512.50 μg 线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 99.78%, RSD 值为 1.16% ($n=6$)。**结论** 建立的方法专属性强、重复性好, 准确简便, 可有效地控制安肾丸的质量。

关键词: 安肾丸; 肉苁蓉; 补骨脂; 白术; 薄层色谱; 苦杏仁苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)01-0047-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.01.013

Quality control for Anshen Pill

WANG Min¹, MA Yu-mei²

1. Department of Applied Medicine, Anshun Vocational College, Anshun 561000, China

2. Shenzhen Taikang Pharmaceutical Co., Ltd. of Shenzhen City, Shenzhen 518110, China

Abstract: Objective To establish a quality standards for the quality control of Anshen Pill. **Methods** The qualitative identification of *Cistanches Herba*, *Psoraleae Fructus*, and *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* in the preparation was carried out by TLC, and the content of amygdalin was determined by HPLC. **Results** The TLC characteristic spots were quite clear. The linearity range of amygdalin was 10.25—512.50 μg ($r=0.9999$), and the average recovery was 99.78% with RSD of 1.16% ($n=6$) by HPLC. **Conclusion** The established method is specific, reproducible, and suitable for the quality control of Anshen Pill.

Key words: Anshen Pill; *Cistanches Herba*; *Psoraleae Fructus*; *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*; TLC; amygdalin; HPLC

安肾丸由巴戟天、肉苁蓉、补骨脂、白术、山药、桃仁等 12 味中药组成, 补肾散寒, 用于肾不纳气, 湿寒侵袭引起的梦遗滑精, 肾囊湿冷, 遗淋白浊, 脐腹作痛, 精神倦怠, 健忘失眠, 腰腿酸痛, 头晕耳鸣, 二便不利^[1]。桃仁在安肾丸中虽然不是君药, 但在该制剂中与君药所占的比例是一致的, 并且桃仁优劣直接影响制剂的质量。苦杏仁苷是桃仁的主要活性成分, 对肝细胞吞噬功能及 rDNA 的活化均有非常明显的促进作用, 能够使制剂的疗效得到充分的发挥^[2]。为了控制安肾丸的质量, 本实验采用薄层色谱法对制剂中的肉苁蓉、补骨脂和白术进行了鉴别, 并采用高效液相色谱法测定了苦杏仁苷。

1 实验材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 配有 Agilent 1311A 泵、Agilent 1313A 自动进样器、G1314A VWD 检测器、G1316A 柱温箱; ChemStation 色谱工作站; BK—360A 超声波清洗机 (360 W, 济南巴克超声波科技有限公司); AG135 型电子天平 (梅特勒-托利多公司); 薄层色谱用硅胶 G 薄层板、薄层色谱用硅胶 GF254、聚酰胺薄层板 (青岛海洋化工厂)。

安肾丸 (100 粒/瓶, 6 g/瓶, 北京同仁堂制药有限公司)。苦杏仁苷 (批号 110820-201004)、松果菊苷 (批号 111670-200503)、毛蕊花糖苷 (批号 111530-200505)、补骨脂素 (批号 110739-201115)、异补骨脂素 (批号 110738-201012) 对照品和白术对照药材 (批号 120925-201109) 均由中国食品药品检定研究院提供。甲醇为色谱纯, 水为超纯水,

收稿日期: 2012-10-28

作者简介: 王 敏, 女, 吉林四平人, 硕士, 讲师, 主要从事中医药学研究。Tel: 18008530266 E-mail: 1015922780@qq.com

其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 肉苁蓉的鉴别^[3-4] 取安肾丸 1 瓶，研成粉末，称取 5 g，精密称定，加甲醇 30 mL，超声处理 15 min，滤过，滤液浓缩至近干，残渣加甲醇 2 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取松果菊苷、毛蕊花糖苷对照品适量，加甲醇分别制成 1 mg/mL 的溶液，作为混合对照品溶液。将安肾丸处方中去掉肉苁蓉，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 VIB) 试验，分别吸取上述 3 种溶液各 10 μ L，分别点于同一聚酰胺薄层板上，以甲醇-醋酸-水(2:1:7)为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯(365 nm)下检视。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，阴性对照中无此荧光斑点，见图 1。



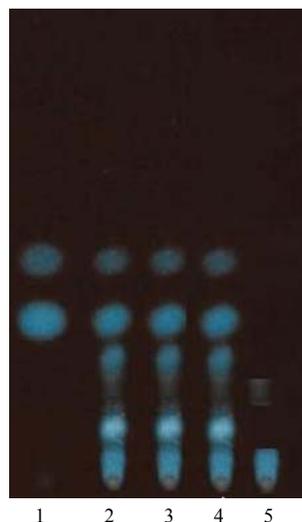
1-混合对照品 2~4-安肾丸 5-阴性对照
1-mixed reference substances 2~4- Anshen Pill 5-negative sample

图 1 安肾丸中肉苁蓉的薄层色谱图

Fig. 1 TLC of *Cistanches Herba* in Anshen Pill

2.1.2 补骨脂的鉴别^[5] 取安肾丸 1 瓶，研成粉末，称取 5 g，加醋酸乙酯 20 mL，超声处理 15 min，滤过，滤液蒸干，残渣加醋酸乙酯 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量，加醋酸乙酯制成各含 2 mg/mL 溶液，作为混合对照品溶液。将安肾丸处方中去掉补骨脂，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 VIB) 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，以正己烷-醋酸乙酯(4:1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 氢氧化钾甲醇溶液，置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显

相同的两个蓝白色荧光斑点，而阴性对照在与对照品色谱相应的位置上无荧光斑点，见图 2。

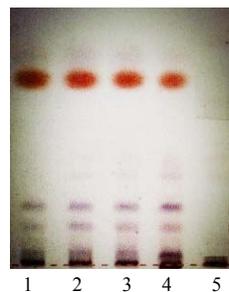


1-混合对照品 2~4-安肾丸 5-阴性对照
1-mixed reference substances 2~4- Anshen Pill 5-negative sample

图 2 安肾丸中补骨脂的薄层色谱图

Fig. 2 TLC of *Psoraleae Fructus* in Anshen Pill

2.1.3 白术的鉴别^[3,6] 取安肾丸 1 瓶，研成粉末，称取 5 g，加正己烷 20 mL，超声处理 15 min，滤过，取滤液，作为供试品溶液。另取白术对照药材 0.5 g，同法制成对照药材溶液。将安肾丸处方中去掉白术，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 VIB) 试验，吸取上述 3 种溶液各 10 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(20:1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 香草醛硫酸溶液，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的位置上，显相同颜色的斑点，并应显一个桃红色主斑点(苍术酮)，而阴性对照在与对照药材色谱相应的位置上无斑点，见图 3。



1-对照药材 2~4-安肾丸 5-阴性对照
1-reference material medicine 2~4- Anshen Pill 5-negative sample

图 3 安肾丸中白术的薄层色谱图

Fig. 3 TLC of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* in Anshen Pill

2.2 苦杏仁苷的 HPLC 法测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验^[7-9] Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (20:80), 检测波长: 210 nm, 柱温: 30 °C, 进样量: 10 μL。理论板数按苦杏仁苷峰计应不低于 3 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取苦杏仁苷对照品 10.25 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得含苦杏仁苷 100 μg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取安肾丸 1 瓶, 研细, 精密称取 3.023 g, 置索氏提取器中, 加石油醚 (60~90 °C) 50 mL, 加热回流 3 h, 放冷, 滤过, 弃去石油醚液, 药渣及滤纸挥干溶剂, 加入 70% 甲醇 50 mL, 加热回流 3 h, 提取液浓缩至 5 mL, 用 50% 甲

醇定容至 100 mL 量瓶中, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取 100 μg/mL 苦杏仁苷对照品溶液 1、2、5、10、15、50 μL, 进样测定, 记录峰面积。以峰面积对进样质量绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=14\,449X+5.143\,8$ ($r=0.999\,9$), 结果表明苦杏仁苷在 10.25~512.50 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.5 空白试验 按处方比例制成缺桃仁的阴性样品, 照“2.2.3”项下方法制备缺桃仁的阴性对照溶液。分别精密吸取苦杏仁苷对照品溶液、安肾丸供试品溶液和缺桃仁的阴性对照溶液各 10 μL, 注入色谱仪, 测定, 结果在苦杏仁苷保留时间位置上阴性对照未见色谱峰, 表明其他药物不干扰指标成分的测定, 见图 4。

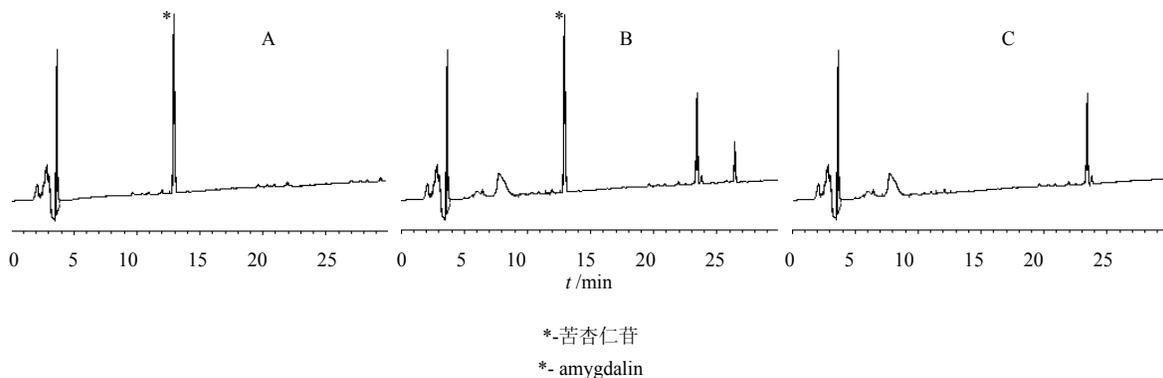


图 4 苦杏仁苷对照品 (A)、安肾丸 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC chromatograms of amygdalin reference substance (A), Anshen Pill (B), and negative sample (C)

2.2.6 精密度试验 取批号 20120201 安肾丸制备的供试品溶液, 分别连续进样 6 次, 每次 10 μL, 测定苦杏仁苷峰面积值, 计算得 RSD 值为 0.98%。

2.2.7 稳定性试验 取批号 20120201 安肾丸制备的供试品溶液, 每隔 2 h 注入色谱仪测定, 记录苦杏仁苷的峰面积值, 计算得其 RSD 值为 0.59% ($n=7$), 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.8 重复性试验 取同一批安肾丸样品 (批号 20120201) 适量, 平行取 6 份, 精密称定, 制备供试品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 以外标法计算苦杏仁苷的质量分数, 结果苦杏仁苷的平均质量分数为 1.83 mg/g, RSD 值为 0.58%。

2.2.9 回收率试验 取同一批安肾丸样品 (批号 20120201) 细粉约 1.66 g, 精密称定, 平行操作 6 份, 分别精密加入苦杏仁苷对照品 3.0 mg, 制备供

试品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 以外标法计算回收率, 结果平均回收率为 99.78%, RSD 值为 1.16%。

2.2.10 样品的测定 精密吸取苦杏仁苷对照品溶液和安肾丸供试品溶液各 10 μL, 注入色谱仪, 测定, 以外标法计算, 结果批号 20120201、20120301、20120601 的安肾丸中苦杏仁苷的质量分数分别为 1.83、1.80、1.85 mg/g, RSD 值分别为 0.85%、0.85%、0.85% ($n=2$)。

3 讨论

肉苁蓉的薄层色谱鉴别中, 采用甲醇和乙醇进行供试品溶液的提取, 结果乙醇提取后的溶液杂质较多, 薄层色谱的分离度不好, 因此采取甲醇提取的方法。

补骨脂的薄层色谱鉴别中, 考察了甲醇、乙醇

和醋酸乙酯提取供试品溶液的效果, 结果甲醇和乙醇提取后的溶液薄层色谱的分离度不好, 比移值为 0.1, 而采用醋酸乙酯提取的溶液, 薄层色谱的分离度好, 比移值为 0.5。

白术的薄层色谱鉴别中, 考察了不同比例的展开剂石油醚 (60~90 °C) - 醋酸乙酯的展开效果, 结果以石油醚 (60~90 °C) - 醋酸乙酯 (20:1) 为展开剂时, 分离效果最好。

苦杏仁苷的 HPLC 法测定中, 对于供试品溶液的处理方法, 参考《中国药典》2010 年版一部“苦杏仁”项下方法, 但由于复方制剂中还有其他药材, 样品分析时分离度没有达到要求, 说明没有有效地除去杂质。为了目标成分提取完全, 实验采用了索氏提取的方法处理, 先用石油醚 (60~90 °C) 除去一些杂质, 再用 70% 甲醇提取目标成分, 结果整个样品在高效液相色谱分析过程中的杂质峰较少, 分离度好, 精密度高, 重复性及稳定性都很好。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂第二册. 1990: Z2-105.
- [2] 邢国秀, 李楠, 杨美燕, 等. 天然苦杏仁苷的研究进展 [J]. 中成药, 2003, 25(12): 1007-1009.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 75, 95.
- [4] 陈立秋. 肉苁蓉的真伪鉴别 [J]. 首都医药, 2004, 11(22): 51.
- [5] 贾晓波. 龟龄集酒中补骨脂的薄层色谱鉴别 [J]. 山西中医学院学报, 2008, 9(1): 49-50.
- [6] 叶燕, 程雪梅, 俞桂新. 白术药材的薄层色谱研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(7): 1702-1703.
- [7] 王友兰, 李红兵, 华玉琴. HPLC 法测定桃仁中苦杏仁苷的含量 [J]. 中国药师, 2002, 5(9): 550.
- [8] 韦志英, 杨志丽, 陆海琳, 等. HPLC 法测定桃仁配方颗粒中苦杏仁苷的含量 [J]. 广西中医学院学报, 2010, 13(4): 49-50.
- [9] 叶晶晶. HPLC 法测定不同产地桃仁中苦杏仁苷的含量 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(1): 206-208.