

# 肝肾补颗粒质量标准研究

段红艳, 杨帆, 陈开义

(三金集团湖南三金制药有限责任公司, 湖南 常德 415000)

**摘要:**为解决肝肾补颗粒质量标准中缺少制何首乌药味及白芍药味的质量控制问题, 本文对肝肾补颗粒中制何首乌药味与白芍药味进行质量研究, 提出采用薄层方法对肝肾补颗粒中制何首乌药味进行鉴别, 用高效液相色谱法测定肝肾补颗粒中芍药苷的含量; 色谱柱为 C18(250mm×4.6mm, 5 $\mu$ m), 柱温 30 $^{\circ}$ C, 流动相为甲醇:水(25:75), 流速为 1.0mL/min, 检测波长为 230nm。芍药苷在 15.8~158 $\mu$ g/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系,  $R^2=0.9998$ ( $N=6$ ), 平均回收率 97.85%,  $RSD=1.7\%$ 。此方法简便、准确、重现性好、专属性强; 可用于肝肾补颗粒质量标准的控制。以期为相关人员提供参考。

**关键词:**肝肾补颗粒; 质量标准; 高效液相色谱法; 制何首乌; 芍药苷

中图分类号: R283.6

文献标识码: A

文章编号: 1004-7344(2022)39-0190-03

## 0 引言

肝肾补颗粒是由三七、熟地黄、制何首乌、党参、枸杞子、白芍、当归、炙甘草、茯苓、黄芪、木香十一味药材组成的复方制剂, 收载于国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS-5889-(B-0889)-2014Z 中, 功能主治益气养血, 滋补肝肾。用于气血两虚, 肝肾不足见有面色苍白, 神疲乏力, 头晕目眩, 心悸, 健忘失眠, 腰膝酸软。原标准中收载了三七、甘草、黄芪的薄层色谱鉴别, 制何首乌中大黄素的高效液相含量测定, 制何首乌中大黄素含量测定方法前处理复杂, 采用了回流、多次蒸干等烦琐步骤, 对大黄素结果准确度有一定影响, 故本文在既往研究的基础上采用高效液相色谱法对方中白芍(以芍药苷计)进行了含量测定, 此方法更为简便, 为更好的控制肝肾补颗粒的质量提供依据<sup>[1]</sup>。

## 1 薄层鉴别方法学研究及验证

**供试品处理方法:**取 2 袋, 研细, 加硫酸溶液(2mol/L) 50mL, 加乙醚用分液漏斗振摇提取 2 次, 每次 30mL, 分取乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。

**对照药材处理方法:**取制何首乌药材 1g, 加硫酸溶液(2mol/L) 20mL, 置水浴锅中使其微沸回流 1h, 冷却, 同法制成对照药材溶液。

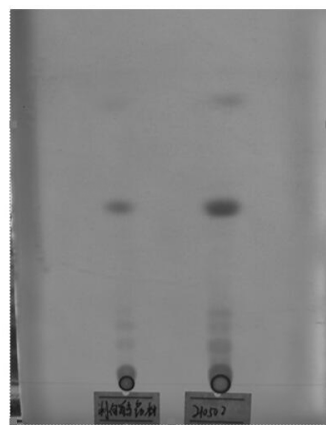
展开剂: 甲酸-乙酸乙酯-甲苯(1:2:15)。

吸附剂: 硅胶 G。

显色: 氨气。

样品批号: 210502。

**实验结果:**在与药材薄层色谱及对照品相应的位置上显同一颜色的荧光斑点, 置氨气熏后, 日光下检视, 显相同的红色斑点<sup>[2]</sup>, 图 1 为制何首乌薄层鉴别。



① 制何首乌药材 5ul  
② 肝肾补颗粒 210502 5ul

图 1 制何首乌薄层鉴别

为验证以上方法的专属性, 制备缺制何首乌药材阴性样, 与肝肾补颗粒样按上述实验方法同法操作, 在同一薄层板上分别点上缺制何首乌阴性样、肝肾补颗粒样和何首乌对照药材样, 结果阴性样在与对照药材色谱相应的位置上没有显相同颜色的斑点, 阴性样其他位置上斑点与肝肾补颗粒样基本一致; 而肝肾补颗粒样则在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑

点。说明该试验方法阴性样无干扰,专属性强,能对肝肾补颗粒中的制何首乌进行定性鉴别<sup>[9]</sup>。

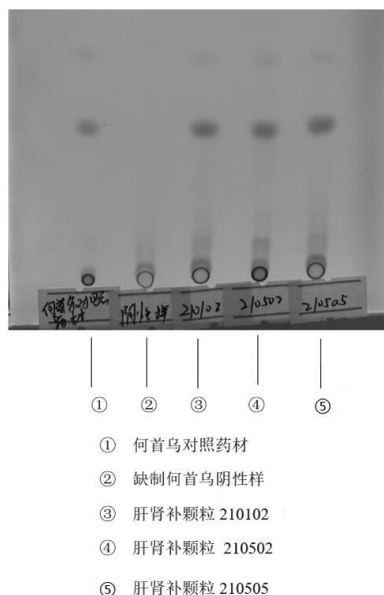


图2 制何首乌专属性薄层鉴别

## 2 含量检测方法学研究及验证

### 2.1 仪器与试剂

仪器:岛津 LC-16、LC-15C 高效液相色谱仪,SPD-16、SPD-15C 紫外检测器,Labsolutions 色谱工作站。

试剂:甲醇(色谱醇湖北弗顿科学技术有限公司)、纯化水。

芍药苷对照品(批号:110736-201640,中国食品药品检定研究院)。

样品:肝肾补颗粒。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:C18(250mm×4.6mm,5 $\mu$ m),填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶。

流动相:甲醇:水(25:75),检测波长为230nm。

流速:1.0mL/min,进样量为10 $\mu$ L,理论板数按芍药苷峰计算不低于3000。

### 2.3 供试品制备

精密称定本品粉末2g,先加水15mL溶解完全。再用水饱和的正丁醇溶液用分液漏斗振摇提取4次,每次15mL,合并正丁醇提取液,水浴蒸干,残渣加稀乙醇适量使溶解。转移至5mL容量瓶中,加稀乙醇至刻度,摇匀即得<sup>[9]</sup>。

### 2.4 对照品溶液的制备

精密称定芍药苷对照品适量,加分析甲醇配制成每1mL中含50 $\mu$ g的溶液,即得。

### 2.5 样品测定

取样品三批,分别为160901、160902、161001批,

照上述色谱条件和上述方法测定芍药苷的含量,测定结果如表1所示。

表1 肝肾补颗粒中芍药苷的含量测定结果

批号	含量/%	每袋重/(g/袋)	含量/(mg/袋)
160901	0.0107	14	1.498
160902	0.0111	14	1.554
161001	0.0120	14	1.680

以上结果表明,肝肾补颗粒中芍药苷均能被有效检出。

## 2.6 方法学验证

### 2.6.1 专属性

按本处方比例,取除白芍的其他药材,按生产工艺制备得阴性样品,并依“供试品溶液制备”项下,同法处理后制得阴性样品,按上述色谱条件,分别取缺白芍阴性样,对照品溶液、供试品溶液各10 $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,在上述色谱条件下进行测定,结果显示,在阴性样色谱图中,芍药苷出峰位置无其他峰干扰,如图3~图5所示。

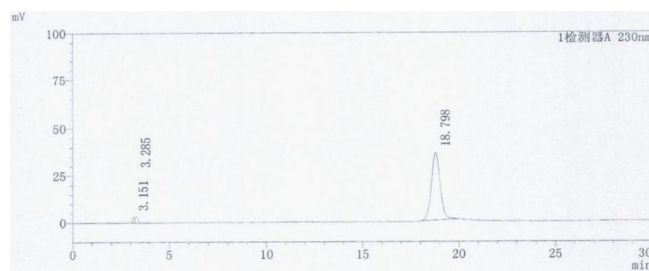


图3 对照品溶液图谱

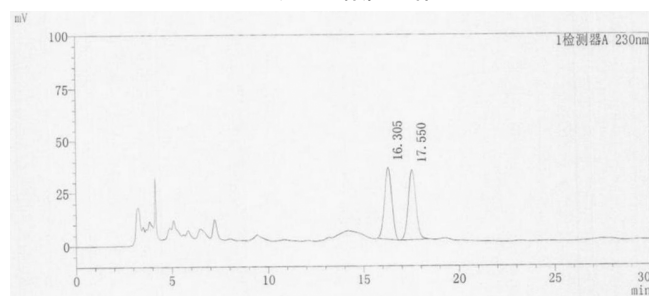


图4 样品溶液图谱

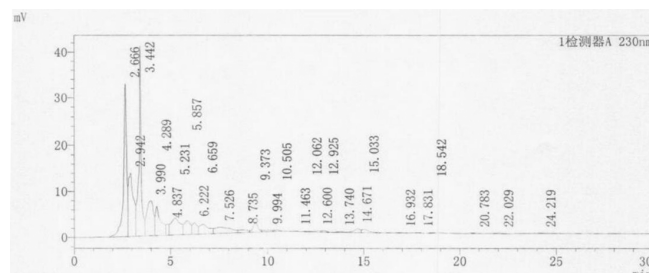


图5 缺白芍阴性样品溶液

### 2.6.2 精密度

精密吸取同一对照品溶液连续进样6针,每次10 $\mu$ L,按上述色谱条件测定,结果如表2所示。

表2 精密度试验结果

次数	1	2	3	4	5	6	平均	RSD
峰面积	715212	716124	716847	717479	719932	725260	718475.7	0.51%

以上结果表明本品的精密度良好。

### 2.6.3 线性

精密称取芍药苷(批号:110736-201640,以95.2%计)对照品0.0083g,置50ml容量瓶中,加分析甲醇先溶解再稀释到刻度,摇匀,作为对照品贮备液( $C_r=158\mu\text{g/mL}$ ),分别精密吸取上述贮备液1mL、3mL、5mL、7mL、10mL,分别置10mL量瓶中,分别加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取10 $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,照上述色谱条件,测定各浓度的色谱峰面积。以芍药苷峰面积为图表横坐标(x),浓度为图表纵坐标(y),制作标准曲线,并进行线性回归,结果如表3、图6所示。

表3 线性试验结果

浓度/ $\mu\text{g/mL}$	峰面积
15.8	228774
47.4	683614
79.0	1174546
110.6	1615900
158.0	2300519

线性回归方程: $y=7E-05x-0.1024$ ,  $R^2=0.9998$

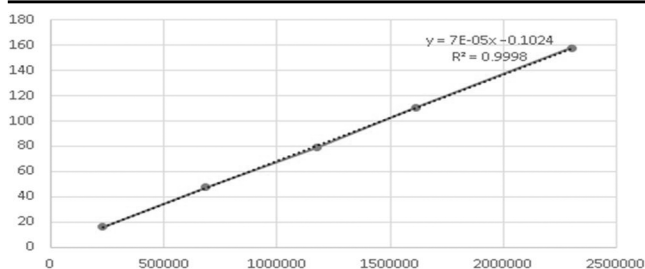


图6 芍药苷线性试验结果

上述结果表明,芍药苷在15.8~158 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积呈良好线性关系。

### 2.6.4 准确度

精密称取肝肾补颗粒样品(已测定含量;批号:160901)6份,分别精密加入芍药苷对照品溶液,照含量测定项下方法制备供试品溶液,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,得6份供试品溶液,分别精密吸取10 $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,按上述色谱条件,依法测定,结果如表4所示。

表4 准确度试验结果

取样量/g	芍药苷含量/ $\mu\text{g}$	加入对照品量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	RSD/%
14.9274	223	237	456	98.31	1.7
15.0717	198	237	428	97.05	
14.8690	202	237	427	94.94	
15.0823	255	237	487	97.89	
15.1000	195.6	237	432	99.75	
15.1318	212	237	447	99.16	

以上结果表明本品的准确度良好。

### 2.6.5 方法耐用性试验

按含量测定方法,分别对160901批肝肾补颗粒采用不同牌号的色谱柱,不同型号的高效液相色谱仪分别测定芍药苷的含量,计算,测定结果如表5、表6所示。

表5 方法耐用性试验结果(一)

色谱柱型号	含量/%
月旭 ultimateAQ-C18 (5 $\mu\text{m}$ ,4.6 $\times$ 250 $\mu\text{m}$ )	0.0107
艾杰儿 promosil (5 $\mu\text{m}$ ,4.6 $\times$ 250 $\mu\text{m}$ )	0.0104

表6 方法耐用性试验结果(二)

高效液相色谱仪型号	含量/%
岛津 LC-16	0.0107
岛津 LC-15	0.0105

以上结果表明方法耐用性试验良好。

## 3 结语

以上试验研究结果表明,肝肾补颗粒样品中的芍药苷能被有效检出,且方法学验证表明该含量测定方法可行。选取了湖南三金制药有限责任公司历年生产的肝肾补颗粒按此方法进行含量测定,均能有效检出。此方法可纳入企业内控标准,便于更好更便利的控制产品质量。

## 参考文献

- [1] 沙世炎,徐礼.中草药有效成分分析法(上册)[M].北京:人民卫生出版社,1982.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:448-449.
- [4] 中国药品生物制品检定所.中国药品检验标准操作规范(2019年版)[M].北京:中国医药科技出版社,2019.
- [5] 中华人民共和国药典:2015年版四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:377-382.

**作者简介:**段红艳(1984—),女,汉族,湖南常德人,本科,工程师,主要从事药品质量研究工作。

杨帆(1996—),男,汉族,湖南常德人,本科,助理工程师,主要从事药品质量研究工作。

**通信作者:**陈开义(1981—),男,汉族,湖南常德人,本科,副主任中药师,主要从事药品研发工作。