

# 宫连消颗粒质量标准研究

张克良 刘雪莲 张雯 朱姝

(南京医科大学附属常州市妇幼保健院, 常州, 213003)

**摘要** 目的:研究并制定宫连消颗粒的质量标准。方法:对江苏江阴天江药业有限公司生产的宫连消颗粒剂中主要影响质量的赤芍、白芍、盐续断以及酒山茱萸进行薄层色谱鉴别,采用高效液相色谱法检测方中君药赤芍、白芍含量,并完成中国药典颗粒剂下要求项目的检查,在此基础上建立质量标准。结果:色谱图上相应位置出现相同斑点,实验中三批宫连消颗粒中芍药苷的含量在 5.12~6.06 mg/g 之间。结论:宫连消颗粒中必须含有主要影响质量的赤、白芍、盐续断以及酒山茱萸,含赤芍、白芍以芍药苷计,含量暂定不得少于 3.50 mg/g。

**关键词** 宫连消颗粒;薄层色谱;高效液相色谱法;质量标准

## Study on Quality Standards of Gonglianxiao Granules

Zhang Keliang, Liu Xuelian, Zhang Wen, Zhu Shu

(Changzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Changzhou 213003, China)

**Abstract Objective:** To build up quality standards of Gonglianxiao granules. **Methods:** The main influential medicinal herbs of Radix Paeoniae Rubra, Radix Paeoniae Alba, Radix Dipsaci and Fructus Corni from Tianjiang Pharmaceutical Ltd. in Jiangyin, Jiangsu Province were determined and submitted to TLC identification and HPLC identification. On the basis of the examinations, the quality standard of Gonglianxiao Keli was built up. **Results:** We could get the corresponding spot of the testing and positive control samples at the corresponding place in the thin layer plate. The average content of paeoniflorin was between 5.12 mg/g and 6.06 mg/g. **Conclusion:** It is suggested by the present study that the quality standards of Gonglianxiao granules should be arranged as follows: Radix Paeoniae Rubra, Radix Paeoniae Alba, Radix Dipsaci and Fructus Corni must be included, and the average content of paeoniflorin shall not be lower than 3.50 mg/g.

**Key Words** Gonglianxiao granules; TLC; HPLC; Quality Standard

中图分类号:R286 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.07.032

宫连消颗粒是由丹参、赤芍、白芍、醋鳖甲、酒山茱萸、熟地黄、盐续断、杜仲、鹿角霜、红花、鸡血藤、陈皮、川芎、醋五灵脂、木香等 15 味中药材制成的颗粒剂,具有养血柔肝,缓中止痛,敛阴收汗的功效<sup>[1]</sup>,用于月经不调,腰膝酸痛,自汗盗汗,产后体虚等。本复方药剂中赤芍、白芍为君药,盐续断、酒山茱萸为臣药,对以上 4 味药进行薄层色谱鉴别;采用 HPLC 法检测方中君药赤芍和白芍含量,以芍药苷作为含量测定的指标成分。

## 1 仪器与试药

1.1 仪器 薄层自动成像仪(CAMAG, REPROSTAR 3);万分之一天平(赛多利斯, BS110S);KQ-250B 型超声清洗器(昆山超声电子厂);Agilent1260 高效液相色谱仪;Agilent-G1311A 四元泵;Agilent-G1322A 真空脱气器;Agilent-G1314B 可变波长检测器;CHEM-STATION B.04.02 化学工作站;KQ-250B 型超声清洗机(昆山超声仪器有限公司);色谱柱:Lichrospher-C<sub>18</sub>

(江苏汉邦科技有限公司, 200 mm × 4.6 mm, 5 μm);紫外分光光度计。

1.2 试药 宫连消颗粒(由江苏江阴天江药业有限公司生产);赤芍对照药材,白芍对照药材,芍药苷(110736-200732)对照品,续断对照药材、川续断皂苷 VI 对照品均购自于中国药品生物制品检定所,供鉴别用;乙腈为色谱纯;水为重蒸馏水;其他试剂均为分析纯;硅胶 G 板(青岛海洋化工厂,规格 10 cm × 10 cm)。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

2.1.1 赤芍、白芍 1) 供试品溶液的制备:取本品适量,研细,取 1 g,加乙醇 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,用正丁醇振荡提取 2 次,15 mL/次,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,10 mL/次,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。2) 对照药材、对照品溶液的

制备:另取赤芍对照药材、白芍对照药材各 0.5 g,同法制成对照药材溶液。再取芍药苷对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。3)薄层鉴别条件<sup>[1]</sup>:薄层板:硅胶 G 板(青岛海洋化工厂)。点样:供试品溶液,干浸膏溶液,对照药材溶液各 5  $\mu$ L,对照品溶液 10  $\mu$ L;点状点样,原点距底边 15 mm。展开剂:三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂。展开缸:双槽展开缸,10 cm  $\times$  10 cm。展开:展开剂预平衡 15 min,上行展开,展距为 8 cm。检视:喷以 5% 香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰。置日光下检视。结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,主斑点一致;在与对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝紫色斑点。阴性样品无干扰,色谱图见图 1。

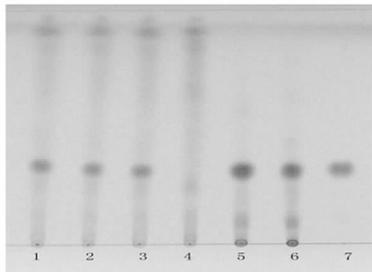


图1 宫连消颗粒中赤芍与白芍的 TLC 鉴别图谱

注:1-3、宫连消颗粒;4、缺赤芍与白芍阴性对照;5、赤芍对照药材;6、白芍对照药材;7、芍药苷

2.1.2 盐续断 1)供试品溶液的制备:取本品适量,研细,取约 2 g,加甲醇 10 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。2)对照药材溶液的制备:另取续断对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。3)对照药材溶液的制备:再取川续断皂苷 VI 对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。4)薄层鉴别条件<sup>[1]</sup>薄层板:硅胶 G 板(青岛海洋化工厂);点样:供试品溶液,对照药材溶液,对照品溶液各 5  $\mu$ L;点状点样,原点距底边 15 mm;展开剂:正丁醇-醋酸-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂;展开缸:双槽展开缸,10 cm  $\times$  10 cm;展开:展开剂预平衡 15 min,上行展开,展距为 8 cm;检视:喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置日光和紫外光灯(365 nm)下检视;结果样品与对照药材、对照品斑点相对应,分离度佳,重现性好。阴性样品无干扰,色谱图见图 2。

2.1.3 酒山茱萸 取本品 4 g,研细,加无水乙醇 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取[山茱萸对照]山茱萸对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再

取[马钱苷对照]马钱苷对照品,加无水乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2010 年版一部附录 VI B)试验<sup>[1]</sup>,吸取上述两种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-乙醇-冰醋酸(50:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的紫红色斑点。由于阴性对照有干扰,故未将该系统收入正文。色谱图见图 3。

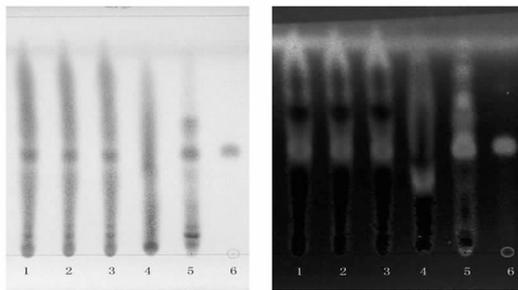


图2 宫连消颗粒盐续断的 TLC 鉴别图谱

注:1-3、宫连消颗粒;4、缺盐续断阴性对照;5、续断对照药材;6、川续断皂苷 VI 对照品

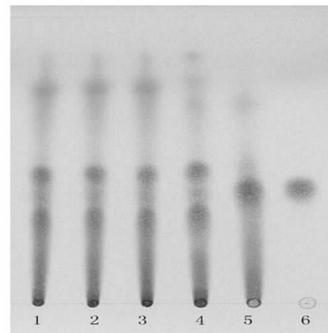


图3 宫连消颗粒酒山茱萸的 TLC 鉴别图谱

注:1-3、宫连消颗粒;4、缺酒山茱萸阴性对照;5、山茱萸对照药材;6、马钱苷对照品

## 2.2 芍药苷含量测定

2.2.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86)为流动相;检测波长:230 nm。理论板数按[芍药苷的峰]芍药苷峰计算应不低于 3 000<sup>[1]</sup>。

2.2.2 对照品溶液的制备 取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,取适量,研细,取约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.3 专属性试验 取样品(批号:1303323)与缺赤芍、白芍阴性样品各1g,精密称定,置具塞锥形瓶中,按拟定的供试品制备方法制备供试品溶液和阴性对照溶液。吸取上述两种溶液及芍药苷对照品溶液(0.224 62 mg/mL)各10 μL,注入液相色谱仪。结果阴性对照色谱图中在与芍药苷对照品相同的保留时间未出现无芍药苷峰,说明阴性对照无干扰。见图4、图5、图6。

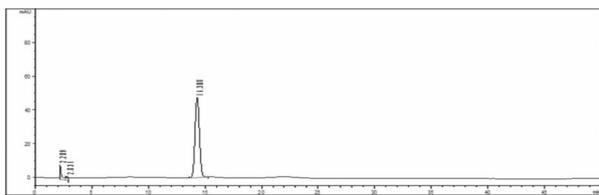


图4 芍药苷对照品的 HPLC 图谱

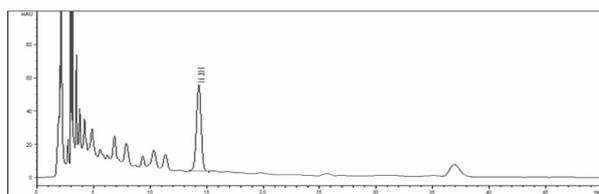


图5 宫连消颗粒的 HPLC 图谱

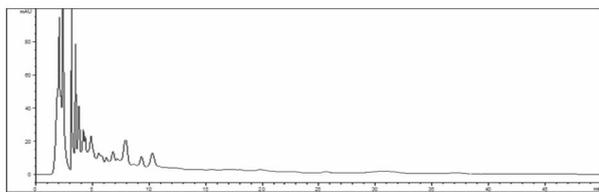


图6 阴性对照样品的 HPLC 图谱

由上图可知:阴性没有干扰。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取芍药苷对照品溶液(0.224 62 mg/mL)1、2、4、6、8、10 μL,注入液相色谱仪,测定,以峰面积积分为纵坐标,芍药苷进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,求得回归方程:Y = 1 241.745 1X - 5.910 6, R = 0.999 9,结果见表1,图谱见图7。

表1 对照品峰面积积分值与进样量关系

进样量(μg)	峰面积积分值
0.224 64	288.448 06
0.449 24	546.673 77
0.898 56	1 101.325 68
1.347 84	1 653.357 42
1.797 12	2 231.774 41
2.246 40	2 790.221 24

2.5 重复性试验 取宫连消颗粒(批号:1303323),平行6份,分别按正文供试品溶液制备方法制成样品供试液,分别进样10 μL,测定芍药苷峰面积值,计算芍药苷含量,计算其RSD,结果见表2。

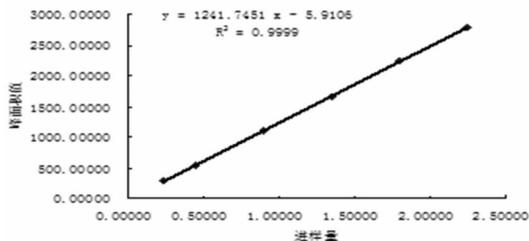


图7 芍药苷对照品的线性关系图

表2 样品的重复性试验结果

试验号	样品重量(g)	峰面积积分值	芍药苷含量(mg/g)	平均含量(mg/g)	RSD(%)
1	1.001 7	1 516.209 84	6.119	6.063	0.56
2	1.001 5	1 500.269 17	6.056		
3	1.011 3	1 507.467 93	6.026		
4	1.003 4	1 502.145 04	6.052		
5	1.001 5	1 496.601 20	6.041		
6	1.002 1	1 508.162 82	6.084		

2.6 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号:1303323,含量:6.06 mg/g)0.5 g,精密称定,分别加入芍药苷适量,按正文供试品溶液制备方法制成加样回收供试品溶液,按上文[含量测定]项下的色谱条件,分别进样10 μL,以下列公式计算回收率,RSD,结果见表3。

$$\text{回收率}(\%) = \frac{\text{测得量}(\text{mg}) - \text{样品中含量}(\text{mg})}{\text{加入对照品量}(\text{mg})} \times 100\%$$

表3 芍药苷加样回收率试验

编号	样品重量(g)	样品含量(mg)	加标量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.503 8	3.053 0	3.032 4	6.077 5	99.74	97.35	1.61
2	0.505 2	3.061 5	3.032 4	5.982 9	96.34		
3	0.502 8	3.047 0	3.032 4	6.004 4	97.53		
4	0.501 6	3.039 7	3.032 4	5.960 2	96.31		
5	0.504 1	3.054 8	3.032 4	6.047 2	98.68		
6	0.506 3	3.068 2	3.032 4	6.964 7	95.52		

试验结果表明:回收率在95%~100%之间,准确度试验良好。

表4 稳定性试验结果

试验序号	试验时间(h)	芍药苷峰面积积分值	平均峰面积值	RSD(%)
1	0	1 509.667 21	1 506.808 43	0.18
2	2	1 503.303 56		
3	4	1 505.597 34		
4	6	1 507.643 51		
5	8	1 504.755 02		
6	10	1 509.886 95		

2.7 稳定性试验 取样品1份(批号:1303323),按正文供试品溶液的制备方法制备供试品溶液供试液,每隔2 h进样10 μL,测定峰面积值,计算其RSD,共测定

10 h, 结果见表 4。

结果表明:样品供试液在 10 h 内稳定性良好。

2.8 样品测定 取样品约 1 g, 精密称定, 按质量标准上文[含量测定]项下操作, 结果见表 5。

表 5 样品测定结果

批号	取样量 (g)	峰面积值	芍药苷含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)
1303321	1.005 4	1 433.676 51	5.765	5.76
	1.004 3	1 429.423 89	5.755	
1303322	1.005 6	1 279.420 14	5.147	5.12
	1.004 1	1 265.803 5	5.100	
1303323	1.003 8	1 503.676 38	6.055	6.06
	1.002 9	1 502.264 84	6.055	

以上三批宫连消颗粒中芍药苷的含量在 5.12 ~ 6.06 mg/g, 考虑到原料来源的差异, 再加上样品批次比较少, 因此在最低含量的基础上, 再下浮 30%, 即暂定宫连消颗粒中含赤芍、白芍以芍药苷计, 含量不得少于 3.50 mg/g。

### 3 讨论

中药制剂作为一种特殊药品, 广发应用于临床, 但其质量标准建立复杂, 难以达到与临床疗效具有一致性的质量标准, 中药制剂质量控制方法关系着中药的发展, 是中药材扩大市场的重要课题及任务<sup>[2-3]</sup>。宫连消颗粒属于中药颗粒剂, 以赤芍、白芍为君药, 同时含有丹参、酒山茱萸、盐续断、陈皮等 15 味中药材, 且赤芍、白芍、盐续断、酒山茱萸药材的含量与临床疗效密切相关, 故本研究选取赤芍、白芍、盐续断、酒山茱萸 4 种药材为主要鉴别药材。

赤芍、白芍的 TLC 鉴别方法参照《中华人民共和国药典》2010 年版第一部, 选择硅胶 G 板, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 加热显色蓝紫色斑点, 且阴性药材无干扰。盐续断 TLC 鉴别方法选择正丁醇-醋酸-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂, 喷 10% 硫酸乙醇溶液, 105 °C 加热至斑点显色清晰, 置日光和紫外光灯(365 nm)下检视, 与中国药典鉴别方法一致, 且分离度佳, 重现性好, 显色清晰。酒山茱萸 TLC 方法以马钱苷作为对照品, 照薄层色谱法进行试验, 由于阴性对照有干扰, 故未采用药典方法, 而是选择以乙酸乙酯-乙醇-冰醋酸(50:10:1)为展开剂, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105 °C 加热至斑点显色, 该方法不仅排除了干扰, 且分离度佳, 重现性好<sup>[4-7]</sup>。

芍药苷的 HPLC 含量测定方法, 药典方法为以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 甲醇-0.05 mmol/L

磷酸二氢钾溶液(40:65)为流动相, 检测波长为 230 nm<sup>[8-13]</sup>, 且进行重复性试验、专属性试验等, 具体方法参照文献<sup>[14-16]</sup>, 因宫连消颗粒成分复杂, 本研究选择以乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86)为流动相, 分离度良好, 专属性试验良好, 无杂质峰干扰芍药苷的测定, 且重复性试验良好, 加样回收率稳定, 提取液稳定, 不同批次含量测定结果显示均在 5.12 ~ 6.06 mg/g, 由此可暂定宫连消颗粒中含赤芍、白芍以芍药苷计, 含量不得少于 3.50 mg/g。

综合分析, 本方法具有简便、快速、分离度及重现性好等优点, 可准确测定芍药苷总量, 可用于宫连消颗粒的质量控制方法。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(2010 版一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 26, 29, 97, 147, 148.
- [2] 辛敏通, 李铮, 郭洪祝, 等. 对中药质量标准研究现状和发展的思考[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(7): 710-713.
- [3] 江磊. 探究中药质量标准研究进展与展望[J]. 中国保健营养, 2013, 3(上): 1521.
- [4] 张振凌, 朱轩, 刘博, 等. 不同方法制酒肉肉饮片高效液相指纹图谱的建立与比较[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1859-1860.
- [5] 谢仕伟, 梁沃华. 盐续断配方颗粒剂的薄层色谱研究[J]. 科技创新导报, 2010, (34): 5.
- [6] 王晓一, 周昕, 陈剑. 薄层鉴别法定性鉴别腰疼丸中续断、牛膝报告[J]. 九江学院学报: 自然科学版, 2006, 21(1): 82-83.
- [7] 刘振丽, 陈其锋, 宋志前, 等. TLC 鉴别方法区别部分中药生品与炮制品的研究[J]. 中药材, 2008, 31(9): 1313-1315.
- [8] 朱金芳, 马生军, 包晓玮, 等. RP-HPLC 法测定赤芍总苷原料中芍药苷和赤芍总苷的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(7): 623-624.
- [9] 袁月华, 张松青. HPLC 法测定栝楼桂枝颗粒中芍药苷含量[J]. 海峡药学, 2013, 25(10): 89-92.
- [10] 伍章保, 王汀, 刘青云, 等. 赤芍总苷质量标准研究[J]. 安徽卫生职业技术学院学报, 2007, 6(3): 75-76.
- [11] 罗云. HPLC 法测定归芍合剂中芍药苷的含量[J]. 内蒙古中医药, 2009, 28(6): 42.
- [12] 侯文启. HPLC 法测定胃药胶囊中芍药苷的含量[J]. 中国社区医师: 医学专业, 2013, 15(4): 198.
- [13] 董玄, 高文远, 高颖. RP-HPLC 法测定赤芍药材中没食子酸、儿茶素、芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酸[J]. 中草药, 2008, 39(12): 1897-1898, 附 4.
- [14] 刘淑花, 田华. 至宝三鞭酒的薄层色谱鉴别及马钱苷的含量测定[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(12): 2989-2991.
- [15] 孙冬梅, 董玉娟, 李素梅. 调经止痛丸的质量标准研究[J]. 中国临床研究, 2013, 5(23): 22-26.
- [16] 邱凤珍, 贺丽茹, 张立颖, 等. 乳炎消颗粒剂质量标准的研究[J]. 现代畜牧兽医, 2011, (3): 35-37.