

# 葛芪颗粒的质量标准研究

吕玲玲<sup>1</sup> 郑岚<sup>1</sup> 谢松<sup>2</sup>

(1 上海交通大学医学院附属瑞金医院中医科,上海,200025; 2 上海医药集团股份有限公司中央研究院,上海,201203)

**摘要** 目的:建立葛芪颗粒的质量标准。方法:使用薄层色谱法对黄芩和川芎进行鉴别。采用高效液相色谱法(HPLC)分离并测定了黄芪甲苷的含量。色谱条件:Diamnosil C<sub>18</sub>柱(460 mm×250 mm,5 μm),以乙腈:水(体积比 34:66)为流动相;蒸发光散射检测器。结果:此方法线性为 0.35~7.02 μg,平均加样回收率为 99.1%。结论:该方法操作较为简单、重复性好、专属性强,可作为葛芪颗粒的质量标准。

**关键词** 葛芪颗粒;黄芪甲苷;川芎;黄芩;薄层色谱法;高效液相色谱

## Study on Quality Standard of Geqi Granules

Lyu Lingling<sup>1</sup>, Zheng Lan<sup>1</sup>, Xie Song<sup>2</sup>

(1 TCM Department, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China;

2 Central Research Institute, Shanghai Pharmaceuticals Holding Co., Ltd. Shanghai 201203, China)

**Abstract Objective:** To develop the quality standard of Geqi granules. **Methods:** The identification of Radix Scutellariae and Rhizoma Chuanxiong was used by TLC. Astragaloside IV was analyzed on an HPLC Diamnosil C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) using acetonitrile with water (34:66) as mobile phase, evaporative light-scattering detector. **Results:** The calibration curve was linear in the range of 0.35-7.02 μg, and the average recovery was 99.1%. **Conclusion:** This method is simple, reliable with good specificity and reproducible, which can be used for the quality control of Geqi granule.

**Key Words** Geqi granules; Astragaloside IV; Radix Scutellariae; Rhizoma Chuanxiong; TLC; HPLC

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.051

胰岛素抵抗(IR)在中医理论体系中尚无相对应的中医病名,在辨证分型上,亦无标准可循。中心性肥胖患者存在IR已被大量临床研究和流行病学调查所证实。现代医学认为,2型糖尿病患者早、中期当属于中医“脾瘕”范畴,核心病机为中满内热,治疗应清热泻火、化浊降脂为主<sup>[1]</sup>。动脉粥样硬化(As)是一种慢性的、进展性的、系统性的疾病,中医认为其病机主要为气血津液的紊乱,脏腑功能失调而形成的,属痰证、瘀证等,故属本虚标实之证<sup>[2]</sup>。现代医家对As的治疗主要是从两大方面着手:一是清源,即清除体内之痰瘀等有形实邪;二是固本,即通过健脾、补肾、调肝等从而达到泻浊、降脂的主要目的<sup>[3]</sup>。这与糖尿病IR的中医病因病机方面有着相通之处,因而治法相似。

葛芪颗粒是上海交通大学医学院附属瑞金医院研制,由黄芪、黄芩、川芎、麦冬和葛根五味药材制成的中药复方制剂,具有益气养阴,活血清热的功效,临床主要用于治疗IR和As,体现了中医异病同治的特点,疗效确切。方中黄芪是葛芪颗粒的君药,其药用有效成分主要是黄芪甲苷。为了控制药品的质

量,本试验选择黄芪甲苷作为含量测定指标,建立HPLC-ELSD法分离测定葛芪颗粒中黄芪甲苷含量的方法;且采用TLC法对方中黄芩,川芎进行鉴别,从而建立葛芪颗粒质量标准。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津LC-10AT高效液相色谱仪;Alltech蒸发光散射检测器;赛多利斯CP-225D型电子天平;KQ-100B型超声波清洗仪。

1.2 试剂 蒸馏水、乙腈为色谱纯,其余试剂分析纯。

1.3 试剂 黄芪甲苷(含量测定用),黄芩对照药材,川芎对照药材,均来源于中国药品生物制品检定所;葛芪颗粒,上海交通大学医学院附属瑞金医院研制,批号为:20150401。

### 2 方法与结果

2.1 黄芩薄层色谱鉴别 称取本品3g,研细,加乙酸乙酯-乙醇(3:1)混合溶液30mL,加热回流30min,放冷滤过,滤液减压蒸干,加乙醇5mL溶解,作为供试品溶液;取空黄芩样品3g,同法制备,得空白空黄芩样品溶液;另取黄芩对照药材1g,同法制备,

得对照药材溶液。吸取上述样品溶液、对照药材溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一聚酰胺薄层板上, 以二甲苯-乙酸乙酯-乙醇-甲酸(10:3:0.8:1)为展开剂, 展开, 取出晾干, 紫外 365 nm 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, 显相同颜色的斑点; 空白样品无干扰(图 1)<sup>[3]</sup>。

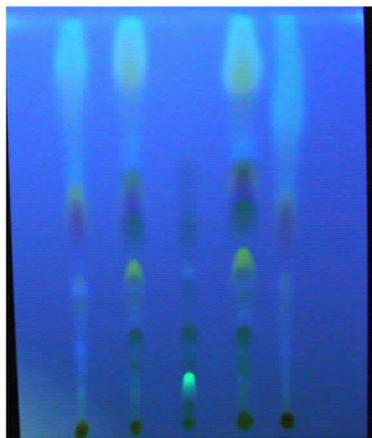


图 1 黄芩薄层鉴别图

注: 从左到右依次为空白溶液、供试品溶液、对照药材溶液、供试品溶液和空白溶液

2.2 川芎薄层色谱鉴别 称取本品 3 g, 研细, 加二氯甲烷 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液水浴蒸干, 用乙醇 2 mL 溶解, 作为供试品溶液; 取空川芎样品 3 g, 同法制备, 得空白空川芎样品溶液; 另取川芎对照药材 1 g, 同法制成为对照药材溶液。照薄层色谱法(通则 0502) 试验, 吸取上述样品溶液、对照药材溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(8.5:0.5)为展开剂, 展开, 取出晾干, 紫外 365 nm 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色斑点; 空白样品无干扰(图 2)。

### 2.3 黄芪甲苷含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱: Dianmonsil C<sub>18</sub> (规格 4.6 mm × 200 mm; 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈-水(34:66); 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 0.8 mL/min; 蒸发光散射检测器条件: 雾化器温度 48  $^{\circ}\text{C}$ ; 漂移管温度为 106  $^{\circ}\text{C}$ ; 载气: 氮气; 气体流量为 2.50/min。理论塔板数为 2500。

#### 2.3.2 溶液的制备

2.3.2.1 供试品溶液的制备 取本品 12 g, 研细, 混匀, 精密称取 9 g, 放置索氏提取器中, 用 100 mL 甲醇加热提取 2 h, 减压蒸干甲醇, 残渣加水 15 溶解, 用 30 mL 水饱和正丁醇萃取 5 次, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 3 次, 20 mL/次, 氨试液弃去, 正丁

醇液减压蒸干, 用乙腈溶解并定容至 5 mL 量瓶, 用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 取续滤液即得。

2.3.2.2 空白样品溶液的制备 取空黄芪样品 9 g, 放置索氏提取器中, 用 100 mL 甲醇加热提取 2 h, 同法制备。

2.3.2.3 对照品溶液制备 精密称取黄芪甲苷的对照品适量, 加乙腈制成每 1 mL 含黄芪甲苷约 0.35 mg 的对照品溶液。

2.3.3 专属性试验 分别取上述 3 种溶液, 按照 2.3.1 色谱条件进样 10  $\mu\text{L}$ , 结果对照品溶液的保留时间分别约为 16 min 左右(见图 I), 样品图谱在此保留时间 16 min 左右同样发现有峰(见图 II), 空白样品在此保留时间 16 min 左右没有相同的峰(见图 III), 阴性样品无干扰。



图 2 川芎薄层鉴别图

注: 从左到右依次为供试品溶液、对照药材溶液、供试品溶液、空白溶液和供试品溶液

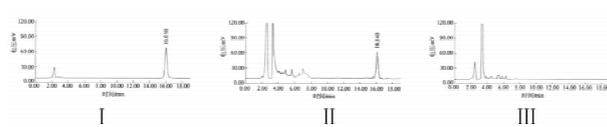


图 3 黄芪甲苷 HPLC 图谱

注: 对照品(I)、供试品(II)和阴性样(III)

2.3.4 精密度试验 精密量取同一对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.3.1 分离色谱条件进样测定 6 次, 结果: 黄芪甲苷峰面积的相对标准偏差为 1.12%。

2.3.5 线性关系考察 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加乙腈制成每毫升含黄芪甲苷 0.702 4 mg 的对照品母液。分别精密移取对照品母液适量, 加乙腈制成每毫升含黄芪甲苷 0.035 mg、0.140 5 mg、0.351 2 mg、0.561 9 mg 的对照品溶液。取上述不同浓度黄芪甲苷对照品溶液按 2.3.1 分离色谱条件进样 10  $\mu\text{L}$ , 以峰面积自然对数为纵坐标 Y, 进样量自

表1 加样回收率试验

| 样品号          | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | 7       | 8       | 9       |
|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 称量样品(g)      | 4.520 2 | 4.511 7 | 4.490 1 | 4.512 1 | 4.492 7 | 4.489 6 | 4.500 7 | 4.492 9 | 4.517 8 |
| 样品中黄芪甲苷量(mg) | 0.865 6 | 0.864 0 | 0.859 9 | 0.864 1 | 0.860 4 | 0.859 8 | 0.861 9 | 0.860 4 | 0.865 2 |
| 黄芪甲苷加入量(mg)  | 0.516 2 | 0.516 2 | 0.516 2 | 0.860 4 | 0.860 4 | 0.860 4 | 1.290 6 | 1.290 6 | 1.290 6 |
| 黄芪甲苷测定量(mg)  | 1.372 5 | 1.397 6 | 1.382 3 | 1.716 7 | 1.709 0 | 1.700 7 | 2.135 6 | 2.127 8 | 2.119 6 |
| 回收率(%)       | 98.2    | 103.4   | 101.2   | 99.1    | 98.6    | 97.7    | 98.7    | 98.2    | 97.2    |
| 平均回收率(%)     | 99.1    |         |         |         |         |         |         |         |         |
| 相对标准偏差(%)    | 1.96    |         |         |         |         |         |         |         |         |

然对数为横坐标 X, 做回归标准曲线, 结果: 黄芪甲苷:  $Y = 6.3097 + 0.7922X$   $r = 0.9999$ 。表明黄芪甲苷在 0.35 ~ 7.02  $\mu\text{g}$  的范围内, 线性关系良好。

2.3.6 稳定性考察 取本品, 按 2.3.2 溶液制备项下的方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 色谱条件分别在 0、2、4、6、8 h 内测定黄芪甲苷峰面积, 结果峰面积相对标准偏差为 0.77%。表明供试品溶液在 0 ~ 8 h 内稳定。

2.3.7 加样回收率试验 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加乙腈制成每 1 mL 含黄芪甲苷 0.860 4 mg 的对照品母液。取本品颗粒适量 (批号为 20150401, 黄芪甲苷含量为 0.191 5 mg/g), 研细, 分别精密称取约 4.5 g, 精密加入对照品溶液适量, 按 2.3.2 供试品溶液制备项下的方法制备, 按 2.3.1 分离色谱条件测定, 结果回收率良好。见表 1。

2.3.8 重复性试验 取本品颗粒 (批号为 20150401), 平行 5 份, 按 2.3.2 供试品溶液制备项下的方法制备, 按 2.3.1 分离色谱条件测定, 结果平均含量为每克颗粒含黄芪甲苷 0.191 5 mg, 相对标准偏差为 1.16%。

2.3.9 样品测定 取 3 批不同批号样品颗粒 (批号分别为 20150401, 20150501 和 20150502), 按 2.3.2 供试品溶液制备项下的方法制备, 按 2.3.1 分离色谱条件测定。见表 2。

表2 3批样品黄芪甲苷含量

| 批号       | 黄芪甲苷(mg/g) |
|----------|------------|
| 20150401 | 0.191 5    |
| 20150501 | 0.194 1    |
| 20150502 | 0.183 6    |
| 平均       | 0.189 7    |

### 3 讨论

本试验曾经采用索氏提取、水浴加热回流提取、超声提取等不同提取方法和不同提取时间以及不同正丁醇提取次数来提取黄芪甲苷进行测定, 含量有高低不同, 最后选择本文章的索氏提取加热回流的

方法, 加样回收率和重复性符合要求。

黄芪甲苷的含量测定法有薄层扫描法 (TLC)<sup>[4-7]</sup>, 高效液相色谱紫外检测法 (HPLC-UV)<sup>[8-11]</sup> 及高效液相色谱蒸发光散射法 (HPLC-ELSD)<sup>[12-17]</sup>, 由于薄层扫描法 (TLC) 测定黄芪甲苷的含量重复性比较差, 紫外检测的高效液相法则需要近 200 nm 的末端吸收波长测定, 空白干扰大, 故本试验采用及高效液相色谱蒸发光散射法 (HPLC-ELSD) 测定, 此方法减少了误差, 重复性较好, 专属性较强, 加样回收率满足了含量测定的要求。

在色谱条件的优化过程中, 曾分别对不同流速: 0.8 ~ 1.2 mL/min, 不同流动相体系: 乙腈-水 (32:68)、乙腈-水 (37:63) 等做了系列比较考察, 结果采用乙腈-水 (34:66) 作为流动相, 流速为 0.8 mL/min, 主峰与其他峰能够达到基线分离, 保留时间在 16 min 左右, 空白无干扰。因此, 本研究采用乙腈-水 (34:66) 作为流动相, 流速为 0.8 mL/min。

本试验曾对麦冬和葛根进行薄层鉴别 TLC 试验, 结果空白样品均有干扰。

本文以高效液相色谱蒸发光散射法 (HPLC-ELSD) 测定葛芪颗粒中主要成分黄芪甲苷的含量, 以薄层色谱法 (TLC) 对黄芩和川芎进行鉴别, 方法分析条件易于操作, 控制精确, 3 种待测成分分离度良好, 空白均无干扰, 重现性较好, 为中药葛芪颗粒的质量标准的制订提供了依据。

### 参考文献

- [1] 刘桂芳, 刘文科, 姬航宇, 等. 2 型糖尿病中医诊疗思路 [C] // 中国中医科学院首席研究员学术论文集萃, 2012.
- [2] 李洁, 安佰海, 韩晶. 中药治疗动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中国中医药科技, 2014, 21 (2): 227-228.
- [3] 黄建民. 颈动脉粥样硬化的中医治疗研究进展 [J]. 广西中医药大学学报, 2010, 13 (3): 58-60.
- [4] 杨荣兵, 莫胜丹, 吴曼. 柴葛洗剂的制备工艺及临床应用研究 [J]. 河北医学, 2012, 18 (6): 782-784.
- [5] 李晓蒙, 李晓莹, 徐位良, 等. 糖康安颗粒质量标准研究 [J]. 广东药学院学报, 2002, 18 (3): 169-171.
- [6] 韩建伟, 芦喜珍, 熊丽. 薄层扫描法测定通脉活络丸中黄芪甲苷

- 的含量[J]. 中国医院药学杂志, 1999, 19(11): 667-668.
- [7] 刘金旗, 时文霞, 刘劲松, 等. 薄层扫描法测定健脑精喷雾剂中黄芪甲甙的含量[J]. 中药材, 1996, 19(10): 529-530.
- [8] 阎汝南, 王静竹, 刘舒平, 等. HPLC法测定黄芪中黄芪甲甙的含量[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(7): 398-399.
- [9] 孙聪, 韩业超, 吴强. 高效液相色谱法测定保元清血颗粒中黄芪甲苷含量方法的建立及评价[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2012, 38(4): 805-808.
- [10] 赵群涛, 杨俊杰, 方永凯, 等. HPLC-UV测定归脾丸(浓缩丸)中酸枣仁皂苷A和黄芪甲苷的含量[J]. 中国执业药师, 2015, 12(9): 36-39.
- [11] 郝新才, 赵萌, 李澍韬. RP-HPLC法测定丹桂香颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 陕西中医学院学报, 2006, 29(1): 61-62.
- [12] 吴永平, 徐永梅, 曹园, 等. HPLC-ELSD法测定黄芪提取物中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2001, 23(9): 673-674.
- [13] 林雅, 施红. HPLC-ELSD法测定石斛合剂中黄芪甲苷的含量[J]. 福建中医药大学学报, 2008, 18(1): 31-32.
- [14] 韩淑萍, 孙建宇. HPLC-ELSD测定补气口服液黄芪甲苷含量的方法研究[J]. 中成药, 2006, 28(12): 1858-1859.
- [15] 田景奎, 吴丽敏, 刘建建, 等. HPLC-ELSD测定芪体颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2004, 26(10): 812-814.
- [16] 赵灵芝, 朱丹妮, 严永清. HPLC-ELSD法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(6): 403-406.

(2017-09-25 收稿 责任编辑: 徐颖)

## 《世界中医药》杂志中药研究栏目征稿通知

《世界中医药》杂志为世界中医药学会联合会的会刊, 目前该会已经成立了26个中药相关专业(如中药、中药新剂型、中药药剂、中药分析、中药化学、中药药理、药材资源、中药鉴定、方剂、中药饮片等)委员会, 这些专业委员会在各自的学科建设、学术交流、人才培养等方面都发挥着重要的作用, 本杂志与各专业委员会联手, 产、学、研、用、政结合, 优化学科建设, 解决中药领域面临的实际困难, 实现“学术、创新、转化、共赢”为目的, 共同推动学科的发展, 在中药领域的推广应用等方面做出了突出贡献。本杂志近几年稳步发展, 办刊质量逐步提升, 影响不断扩大, 据中国科学技术信息研究所2015年期刊评价最新数据显示, 本杂志核心影响因子为0.773, 在中医学类期刊中排名第3, 在中药学类期刊中排名第4, 连续7年被评定为中国科技核心期刊。杂志设置“中药研究”栏目, 陆续宣传展示国内外中药学研究进展和最新动态, 是中药研究高学术水平的交流平台。如果您致力于中药领域的研究, 请将您在新药研发、中药资源与鉴定、中药分析、药剂学、中药化学、药

理、不良反应等方向的新成果、新技术、新方法与新思路撰写成有创新性的文章或综述, 在本杂志上发表。内容以7000字符以上为宜, 稿件一经录用, 优先安排发表。《世界中医药》杂志(CN 11-5529/R; ISSN 1673-7202)由国家中医药管理局主管, 世界中医药学会联合会主办, 创刊于2006年, 是中国第一本面向国内外公开发行的中医药类综合性学术期刊, 月刊。2009年被国家科技部收录为“中国科技核心期刊”。杂志全文收录在《中国期刊全文数据库》《中文科技期刊数据库》《中国核心期刊数据库》《中文科技期刊综合评价数据库》《美国乌利希期刊指南收录期刊数据库》《美国化学文摘CA收录期刊数据库》等一系列检索系统。

欢迎您踊跃投稿!

投稿请通过《世界中医药》杂志社官方网站: [www.sjzyyz.com](http://www.sjzyyz.com), “在线投稿”入口注册投稿, 并注明“中药征稿”字样。

联系电话: 0086-10-58650023, 58239055; 传真: 0086-10-58650236; E-mail: [sjzyyz@vip.126.com](mailto:sjzyyz@vip.126.com)