

· 中药工业 ·

壮腰健身丸质量标准研究[△]

沈敏, 赵雯, 刘敏, 任琦*, 付辉政*

(江西省药品检验检测研究院, 江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心, 江西 南昌 330029)

[摘要] 目的: 建立壮腰健身丸的质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别壮腰健身丸中熟地黄、制何首乌; 采用高效液相色谱法测定特女贞苷的含量。结果: 薄层鉴别色谱中特征斑点明显, 重复性较好; 特女贞苷在 0.052 7 ~ 0.842 5 μg ($r=0.999\ 9$) 之间呈良好的线性, 特女贞苷的平均回收率为 98.0% ($n=6$), $\text{RSD}=0.5\%$ ($n=6$)。结论: 通过研究建立了壮腰健身丸的质量标准。

[关键词] 壮腰健身丸; 特女贞苷; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量控制

Investigation on Quality Standard of Zhuangyao Jianshen Pills

SHEN Min, ZHAO Wen, LIU Min, REN Qi*, FU Hui-zheng*

(Jiangxi Provincial Institute for Drug Control, Jiangxi Provincial Engineering Research Center for Drug and Medical Device Quality, Nanchang 330029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality standard for Zhuangyao Jianshen Pills. **Methods:** Rehmanniae Radix Praeparata and Polygoni Multiflori Radix Praeparata in Zhuangyao Jianshen Pills were identified by TLC. Specnuezhenide in Zhuangyao Jianshen Pills were determined by HPLC. **Results:** The characteristic spots could be detected by TLC and the method had good reproducibility. The linear range of specnuezhenide was 0.052 7-0.842 5 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery rate was 98.0% and RSD was 0.5% ($n=6$). **Conclusion:** The established method can be used for the quality control of Zhuangyao Jianshen Pills.

[Keywords] Zhuangyao Jianshen Pills; specnuezhenide; TLC; HPLC; quality control

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180125002

壮腰健身丸收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十四册^[1], 系由女贞子(酒蒸)、黄精、熟地黄、金樱子、狗脊、制何首乌、千斤拔七味药材组成, 具有壮腰健身的功效。用于腰酸腿软, 头晕耳鸣, 眼花心悸, 阳萎遗精等症。壮腰健身丸标准仅有性状、显微鉴别、检查项目, 难以有效控制产品质量, 目前未见有关壮腰健身丸质量控制方面的报道。为了有效地控制产品的质量, 保证其安全性和有效性, 本实验采用 TLC 法对壮腰健身丸中熟地黄^[2-3]、制何首乌^[2,4-5]进行定性鉴别研究, 并运用 HPLC 同时测定其中特女贞苷的量^[2,6-8], 为该制剂的质量控制提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-20AD 高效液相色谱仪, 四元泵、自动进样器、柱温箱、PAD 检测器、LC solution 工作站; 电子天平: Sartorius BT 25 S 十万分之一天平。

1.2 试药

壮腰健身丸样品由江西半边天药业有限公司(批号: 160302、160603)和江西九华药业有限公司(批号: 20160701)提供; 熟地黄对照药材(批号: 121196-201406)、制何首乌对照药材(批号: 121454-201405)、特女贞苷对照品(批号: 111926-

[△] [基金项目] 江西省食品药品监督管理局科研项目(2017YX09)

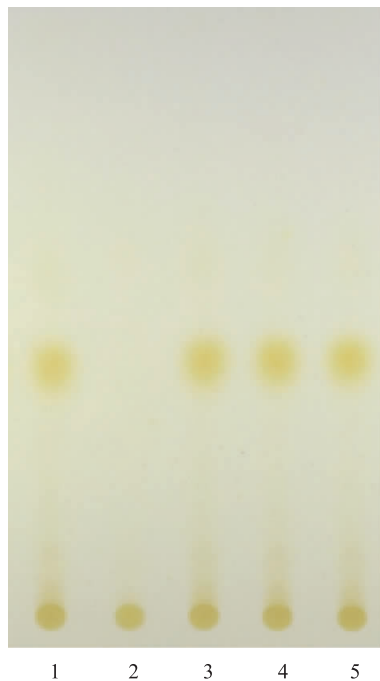
* [通信作者] 任琦, 主管药师, 研究方向: 中药质量标准研究; Tel: (0791) 88158716, E-mail: jiangxizhongyi2008@163.com
付辉政, 副研究员, 研究方向: 中药活性成分及质量标准研究; Tel: (0791) 88158716, E-mail: fhzhfz620@sohu.com

201001, 含量为 94.4%) 均购自中国食品药品检定研究院。硅胶 G 板(青岛海洋化工厂分厂); 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为娃哈哈饮用纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 熟地黄薄层色谱鉴别

取本品 5 g, 剪碎, 加等量硅藻土, 研匀, 加水 100 mL, 温热使充分溶散, 加热至沸, 放冷, 离心, 取上清液用乙酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 30 mL, 合并乙酸乙酯液, 回收溶剂至干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取熟地黄对照药材 4 g, 加水 60 mL, 煎煮 30 min, 用脱脂棉滤过, 滤液同法制成对照药材溶液。取缺少熟地黄药材的阴性处方样品 5 g, 并按供试品溶液的制备方法同法操作, 制得阴性对照液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2015 年版通则 0502) 试验, 吸取上述三种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二甲苯-乙酸乙酯(1:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2, 4-二硝基苯肼乙醇试液, 置日光下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。且阴性对照在该位置上无相同颜色的斑点, 无干扰。见图 1。

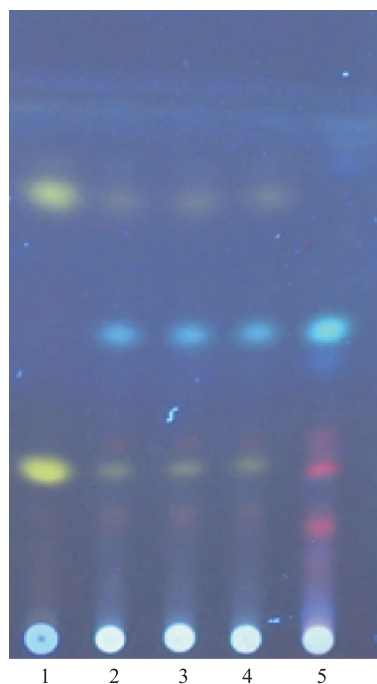


注: 1. 熟地黄对照药材; 2. 阴性对照; 3~5. 供试品溶液。

图 1 熟地黄薄层色谱鉴别

2.2 制何首乌薄层色谱鉴别

取本品 6 g, 剪碎, 加等量硅藻土, 研匀, 加乙醇 50 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 3 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取制何首乌对照药材 0.25 g, 同法制成作为对照药材溶液。取缺少制何首乌药材的阴性处方样品 6 g, 并按供试品溶液的制备方法同法操作, 制得阴性对照液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2015 年版通则 0502) 试验, 吸取上述三种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯(5:1) 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, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点。且阴性对照在该位置上无相同颜色的荧光斑点, 无干扰。见图 2。



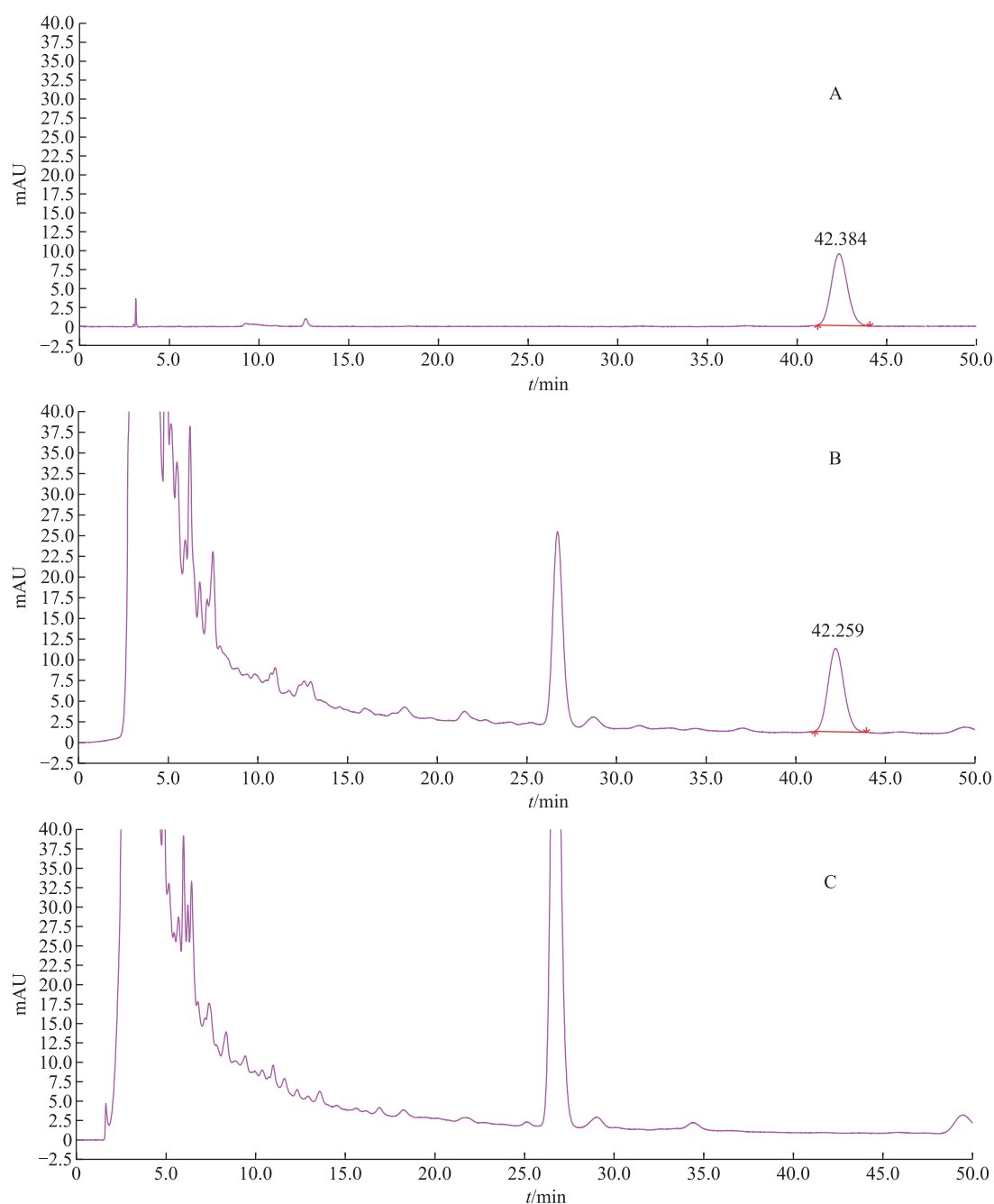
注: 1. 制何首乌对照药材; 2~4. 供试品溶液; 5. 阴性对照。

图 2 制何首乌薄层色谱鉴别

3 特女贞苷的 HPLC 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-SP C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.05 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液(25:75); 检测波长: 224 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。在上述色谱条件下, 特女贞苷与其他组分的色谱峰分离度良好。色谱图见图 3。



注: A. 特女贞苷对照品溶液; B. 壮腰健身丸供试品溶液; C. 缺女贞子(酒制)阴性对照溶液。

图3 壮腰健身丸 HPLC 含量测定色谱图

3.2 对照品溶液的制备

取特女贞苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,即得。

3.3 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品,剪碎,取约 3 g,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,离心,取

上清液滤过,取续滤液,即得。

3.4 线性关系的考察

精密称取特女贞苷对照品 17.85 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释成 $0.1685 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 特女贞苷($\frac{17.85\text{mg}}{100\text{mL}} \times 94.4\% = 0.1685 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的对照品溶液。吸取上述特女贞苷对照品溶液,加甲醇依次稀释至浓度为 0.084 2、0.042 1、0.021 1、

0.010 5、0.005 3 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 分别吸取 10 μL 按上述色谱条件测定峰面积。以进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线回归方程分别为: $Y = 1.220 1 \times 10^6 X - 8.214 1 \times 10^3$ ($r = 0.999 9$)。特女贞苷进样量在 0.052 7 ~ 0.842 5 μg 与峰面积呈良好线性关系。

3.5 精密度试验

精密吸取按 3.2 项下方法制备的对照品溶液 10 μL , 在上述色谱条件下连续进样 6 次, 测定峰面积。结果特女贞苷峰面积的 RSD 为 0.3% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

3.6 重复性试验

取同一批壮腰健身丸样品 6 份, 每份约 3 g, 精密称定, 按 3.3 项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进行分析测定, 特女贞苷的含量的平均值为 0.883 5 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.6%, 表明该方法有良好的重复性。

3.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 分别于 0、7、14、21、28、35 h 进样测定, 测得特女贞苷峰面积的 RSD 为 0.4% ($n = 6$), 说明供试品溶液在 35 h 内稳定。

3.8 回收率试验

采用加样回收法, 精密称取已知含量(特女贞苷含量为 0.883 5 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)的壮腰健身丸样品 6 份, 每份约 1.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 每份精密加入含特女贞苷 0.026 9 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 50 mL, 按 3.3 项下方法制备供试溶液, 在上述色谱条件下进行分析测定, 计算回收率。结果特女贞苷的平均回收率为 98.0% ($n = 6$), RSD 为 0.5%。见表 1。

表 1 特女贞苷回收率试验结果 ($n = 6$)

序号	取样量/g	测得含量/mg	样品中的量/mg	加入量/mg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.508 6	2.654 1	1.332 8		98.22		
2	1.502 2	2.656 4	1.327 2		98.81		
3	1.505 9	2.643 0	1.330 5	1.345 2	97.57	98.0	0.5
4	1.501 2	2.640 2	1.326 3		97.67		
5	1.507 8	2.651 6	1.332 1		98.09		
6	1.507 4	2.644 1	1.331 8		97.55		

3.9 耐用性试验

取本品照 3.1 项下方法试验, 分别用 A: Inertsil ODS-SP C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、B: Diamonsil C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、C: Thermo C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 3 种品牌的色谱柱按 3.1 项下的色谱条件对其进行测定, 含量测定结果无明显差别。

3.10 样品测定

分别取不同批号的壮腰健身丸 3 批, 每个样品取 3 份, 按 3.3 项下方法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μL , 在上述色谱条件下进样分析, 测定峰面积, 用外标法计算出特女贞苷的含量, 测定结果见表 2。

表 2 壮腰健身丸中特女贞苷的含量 ($n = 3$)

编号	样品批号	特女贞苷的含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	160302	0.698
2	160603	0.884
3	20160701	0.728

4 讨论

4.1 薄层色谱条件的选择

本实验选择的薄层色谱条件下, 熟地黄、制何首乌供试品色谱与对照药材相应的位置上, 显相同的颜色斑点, 阴性对照无干扰。

4.2 测定波长的选择

采用 PDA 检测器对特女贞苷对照品色谱峰进行光谱扫描, 结果特女贞苷在 224 nm 波长处有最大吸收, 由于 224 nm 杂峰对目标峰干扰少且稳定, 故选择 224 nm 作为检测波长。

4.3 提取方法的选择

比较了甲醇加热回流提取, 甲醇超声提取两种提取法, 结果表明超声提取法提取效率大于加热回流提取法。实验过程中比较了提取溶剂倍量 (25、50、100 mL)、提取时间 (30、45、60、90 min) 及提取溶剂 (50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇、50% 乙醇、70% 乙醇), 结果表明, 提取溶剂量为 50 mL、提取时间为 60 min 和提取溶剂为甲醇时能将特女贞苷完全提取, 作为最终提取方法。

(下转第 1033 页)

参考文献

- [1] 李时珍. 本草纲目·序例第一卷·引据古今经史百家书目·范子计然[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:27.
- [2] 唐廷猷.《范子计然》研究——西汉时以药材为主的商品学[J]. 成都中医药大学学报,2000,23(2):56-57.
- [3] 黄奭. 黄氏逸书考·子史钩沉·范子计然. 见:民国甲戌江都朱长圻据甘泉黄奭原版补刊,1935.
- [4] 司马迁. 史记·淮阴侯列传,见:曹金洪. 国学经典·史记[M]. 北京:北京燕山出版社,2011:594.
- [5] 班固. 汉书·第4册·食货志第四下[M]. 北京:中华书局,1962:1181.
- [6] 薛愚. 中国药学史料·五十二病方现存药名[M]. 北京:人民卫生出版社,1984:72-79.
- [7] 刘安. 淮南子·修务训. 见:陈广忠, 陈青远, 付芮. 淮南子译注[M]. 上海:上海三联书店,2014:377-378.
- [8] 国家医药管理局、中华人民共和国卫生部制订. 七十六种药材商品规格标准·说明及药材商品规格标准实施办法,1984:3,145.
- [9] 薛愚. 中国药学史料·治百病方[M]. 北京:人民卫生出版社,1984:117.
- [10] 陶弘景. 本草经集注·卷第三·柏实,尚志钧、尚元胜辑校[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:193.
- [11] 孙星衍、孙冯翼合辑. 神农本草经·卷上·柏实[M], 见:钱超尘主编. 中华经典医书·第四集·神农本草经·卷上·柏实[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:44.
- [12] 成都中医学院. 伤寒论讲义[M]. 上海:上海科技出版社,1964:122,148,156.
- [13] 广州中医学院. 方剂学[M]. 上海:上海科技出版社,1979:127.
- [14] 陶弘景. 本草经集注·卷第二·紫石英,尚志钧、尚元胜辑校[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:141.
- [15] 王开义. 新疆出土医药文献述要[J]. 新疆中医药,1992,37(1):35-39.
- [16] 欧阳修、宋祁. 新唐书·第5册·艺文志三[M]. 北京:中华书局,1975:1537.
- [17] 赵九洲. 古农书范子计然散佚时间与辑佚情况考订[J]. 农业考古,2013(1):331.
- [18] 赵九洲.《范子计然》中的物产记载初探[J]. 农业考古,2014(1):260.

(收稿日期 2018-05-24)

(上接第1027页)

4.4 色谱条件的优化

本实验通过摸索乙腈-水、甲醇-水、乙腈-甲酸水溶液、甲醇-甲酸水溶液和甲醇-磷酸二氢钾水溶液按一定比例混合作为流动相,考察其分离度,结果以甲醇-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾水溶液(25:75)为流动相,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃的色谱条件下供试品中特女贞苷与其他共存组分峰能达到良好的分离。

本实验建立了壮腰健身丸中特女贞苷的 HPLC 含量测定方法,并对方中主要药味熟地黄、制何首乌进行了 TLC 定性鉴别。实验结果表明,所建立的方法操作简便、结果可靠、重复性好。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂:第十四册[M]. 北京:人
- 民卫生出版社,1997:45.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:45-46,125,176-177.
- [3] 崔小敏,李芳,李凡,等. 双参胶囊的质量标准提高研究[J], 中国药房,2016,27(12):1677-1679.
- [4] 袁春平,林碧珊,吴洁莹,等. 升血调元颗粒的质量标准研究[J], 中国现代中药,2014,16(8):652-656.
- [5] 郭强. 心安宁片质量标准研究[J], 中国现代中药,2015,17(3):254-256.
- [6] 刘亭亭,王萌. 女贞子化学成分与药理作用研究进展[J], 中国实验方剂学杂志,2014,20(14):228-234.
- [7] 任爽,李峥,王京辉,等. 中药女贞子饮片中8个成分的含量比较研究[J], 药物分析杂志,2015,35(8):1393-1402.
- [8] 霍雨佳,岳琳,刘颖,等. 酒制对女贞子饮片主要化学成分含量的影响[J], 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):26-30.

(收稿日期 2018-01-25)