

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.16.005

强力生发丸质量标准研究*

石红霞,马静,杨林[△]

(四川大学华西医院临床药理学部,四川 成都 610041)

摘要:目的 为建立强力生发丸的质量标准提供参考。方法 采用薄层色谱法对制剂中五味子和当归进行定性鉴别;参照2015年版《中国药典(四部)》标准对水分和溶散时限进行检查;采用高效液相色谱法测定其有效成分芍药苷的含量,色谱柱为Dikma Diamonsil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸(15:85),流速为1 mL/min,柱温为35℃,检测波长为230 nm。结果 五味子和当归的薄层色谱图成分斑点清楚,阴性无干扰,分离度良好;芍药苷进样量在0.119~4.760 mg范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.999\ 6(n=6)$;平均加样回收率为97.56%,RSD为1.22%($n=6$)。结论 该方法操作简便,结果准确,重复性好,可切实控制强力生发丸的产品质量。

关键词:强力生发丸;薄层色谱法;高效液相色谱法;芍药苷;质量标准

中图分类号:R285.6;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)16-0014-04

Study on Quality Standard of Qiangli Shengfa Pills

Shi Hongxia, Ma Jing, Yang Lin

(Department of Pharmacy, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041)

Abstract: Objective To provide a reference for establishing the quality standard of Qiangli Shengfa Pills. **Methods** TLC method was used for qualitative identification of *Schisandra chinensis Fructus* and *Angelicae sinensis Radix*. The moisture and dissolution time limits were checked according to the standards of the *Chinese Pharmacopoeia* (2015 Edition, Volume IV). The content of paeoniflorin was determined by HPLC. The chromatographic column was Dikma Diamonsil C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (15:85) at the flow rate of 1 mL/min. The column temperature was 35℃, and the detection wavelength was 230 nm. **Results** TLC showed *Schisandra chinensis Fructus* and *Angelicae sinensis Radix* had clear spots and good separation without interference for negative control. The paeoniflorin showed a good linear relationship in the range of 0.119~4.760 mg, $r=0.999\ 6(n=6)$, the average recovery rate of paeoniflorin was 97.56%, RSD was 1.22% ($n=6$). **Conclusion** The method is sample, accurate and reproducible, which can be used for the quality control of Qiangli Shengfa Pills.

Key words: Qiangli Shengfa Pills; TLC; HPLC; paeoniflorin; quality standard

强力生发丸由当归、首乌、白芍和五味子等11味药材组方,有补血填精、滋补肝肾、乌须黑发的功效,临床常用于治疗肝肾不足所致头发早白、稀疏、斑秃、脱发等症。为了让本品质量更可控,本研究中采用薄层色谱(TLC)法对强力生发丸中的五味子和当归进行定性鉴别,参照2015年版《中国药典(四部)》通则0108“丸剂”项下规定对水分及溶散时限进行了检查,并参考2015年版《中国药典(一部)》方法^[1],采用高效液相色谱(HPLC)法测定强力生发丸中芍药苷的含量,结果准确可靠。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

DHG-9140型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司);DK98-1型水浴锅(天津泰斯特仪器有限公司);PBQ I型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂);KQ3200E型超声波清洗器(功率为80 W,工作频

率为40 kHz,昆山市超声仪器有限公司);LB-2D型智能崩解时限测定仪(上海黄海药检仪器有限公司);XP205DR型十万分之一电子天平(梅特勒托利多公司);LC-10AT型高效液相泵、SPD-10Avp型紫外检测器(日本岛津公司);美国奥泰SS420X工作站;色谱柱为Scienhome C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,5 μm,天津琛航公司)及Diamonsil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,5 μm,迪马公司);硅胶G板和硅胶GF₂₅₄板分别为自制薄层板和市售薄层板(青岛海浪硅胶干燥剂厂)。

1.2 试剂

甲醇、乙酸乙酯、正己烷等(分析纯,成都市方舟化学试剂厂);乙腈(色谱纯,霍尼韦尔公司);纯净水(娃哈哈集团有限公司);芍药苷对照品(批号为110736-201035),五味子甲素对照品(批号为110764-201010),当归对照药材(批号为120927-201510,供鉴别用),均购自中国食品药品检定研究院;强力生发丸

*基金项目:四川省中医药管理局中医药科研项目[2018KF014]。

第一作者:石红霞,大学本科,主管中药师,研究方向为中药的鉴定及临床应用,(电子信箱)397299938@qq.com。

[△]通信作者:杨林,硕士研究生,副主任药师,研究方向为中药临床应用与合理用药,(电子信箱)1550010063@qq.com。

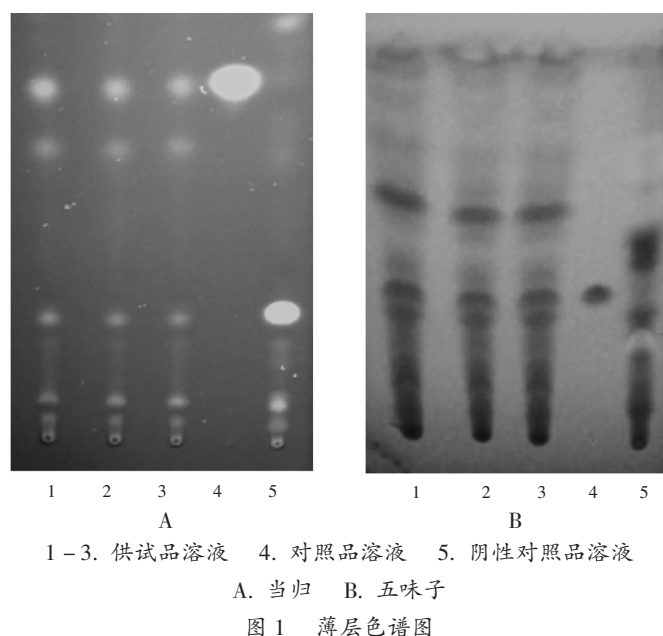
(成都永康制药有限公司,批号分别为20160403,20160404,20160405)。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

当归:取本品10g,研细,置锥形瓶中,加乙醚50mL浸泡过夜,时时振摇,过滤,挥干,残渣加1mL无水乙醇溶解,作为供试品溶液。另取当归药材0.5g,加入乙醚10mL,同法制成对照品溶液。按强力生发丸处方和工艺调配缺当归的阴性对照品10g,按上述方法制成当归阴性对照品溶液。按2015年版《中国药典(四部)》通则0502试验,吸取3种溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1A。

五味子:取本品10g,研细,置圆底瓶中,加入三氯甲烷50mL,加热回流30min,滤过,滤液蒸干,残渣加1mL乙醇溶解,作为供试品溶液。另取五味子甲素对照品适量,加三氯甲烷制成每1mL含0.5mg的对照品溶液。按强力生发丸处方和工艺调配缺五味子的阴性对照品10g,按上述方法制成五味子阴性对照品溶液。照2015年版《中国药典(四部)》通则0502试验,吸取3种溶液各10 μ L,分别点于同一GF₂₅₄薄层板上,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂。展开,取出,晾干,置254nm紫外光灯下观察。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1B。



2.2 检查

水分检查参照2015年版《中国药典(四部)》通则

0832水分测定法的第二法(烘干法)进行测定,溶散时限参照2015年版《中国药典(四部)》通则0921崩解时限的挡板法进行测定。结果水分平均值为7.6%(未超过9.0%),制剂在1h内全部溶散,平均耗时50min,均符合相关规定。详见表1。

表1 水分及溶散时间测定结果

批号	含水量(%)	溶散时间(min)
20160403	7.3	50
20160404	7.9	49
20160405	7.6	52

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱:采用C₁₈柱为填充剂;流动相:乙腈-0.1%磷酸(15:85);流速:1.0mL/min;检测波长:230nm;柱温:35℃;进样量:10 μ L。

2.3.2 溶液制备

对照品溶液:称取芍药苷对照品11.90mg,精密称定,置10mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为1.190g/L的对照品贮备溶液;精密量取贮备溶液2mL,置10mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为0.238g/L的对照品溶液,再精密量取该溶液1mL,置10mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得芍药苷质量浓度为23.8 μ g/mL的溶液。

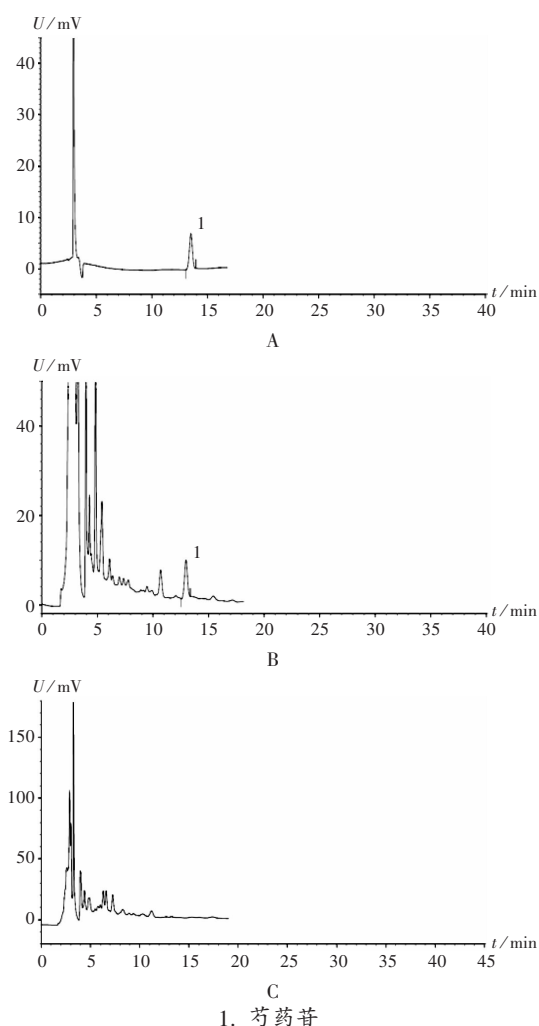
供试品溶液:取本品适量,研成细粉,取约2g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%乙醇50mL,密塞,称定质量,超声处理(功率为150W,频率为40kHz)30min,放冷,再称定质量,用50%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,弃去初滤液,续滤液用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,即得。

阴性对照品溶液:按强力生发丸处方和工艺调制缺芍药材的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3.3 方法学考察

专属性试验:分别取2.3.2项下3种溶液各适量,按拟定色谱条件进样检测,并记录色谱图(见图2)。结果表明,供试品溶液与对照品溶液均能达到基线分离,芍药苷主峰分离度良好,分离度(R) ≥ 1.5 ,阴性对照品溶液在与对照品溶液和供试品溶液色谱相应位置上无吸收峰,说明方法专属性良好。

线性关系考察:分别精密吸取质量浓度为23.8 μ g/mL和0.238mg/mL的芍药苷对照品溶液5,10,20 μ L,注入高效液相色谱仪,以峰面积(Y)为纵坐标、进样量(X ,mg)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 589.88X - 22273$, $r = 0.9996$ ($n = 6$)。结果表明,芍药苷进样量在0.119~4.760mg范围内与峰面积线



A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照品溶液
图2 芍药苷高效液相色谱图

性关系良好。

精密度试验:精密吸取质量浓度为 $23.8 \mu\text{g/mL}$ 的芍药苷对照品溶液 $10 \mu\text{L}$,按拟订色谱条件连续进样6次,计算峰面积。结果的 RSD 为 0.79% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:按2.3.2项下方法制备供试品溶液(批号为20160403),另取浓度为 $23.8 \mu\text{g/mL}$ 的芍药苷对照品溶液适量,分别放置0,2,4,6,8,12 h,按拟订色谱条件进样,记录峰面积。结果的 RSD 为 1.56% ($n=6$),表明供试品溶液在12 h内稳定。

重复性试验:取同一批(批号为20160403)强力生发丸适量,研成细粉,称取6份,每份约2 g,精密称定,依法制备供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液及质量浓度为 $23.8 \mu\text{g/mL}$ 的芍药苷对照品溶液各 $10 \mu\text{L}$,按拟订色谱条件进样,记录峰面积,计算含量。结果强力生发丸中芍药苷的平均含量为 0.167 mg/g , RSD 为 1.45% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:称取已知含量的同一批(批号为

20160403,含芍药苷 0.669 mg/g)强力生发丸6份,各约1 g,精密称定,分别置6个具塞锥形瓶中,精密加入芍药苷对照品溶液(质量浓度为 0.715 mg/mL) 1.0 mL ,依法制备溶液,按拟订色谱条件,记录峰面积,计算回收率。结果见表2。

表2 芍药苷加样回收试验结果($n=6$)

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1.015 27	0.701 8	0.715	1.392 8	96.64	97.56	1.22
0.997 54	0.669 7	0.715	1.365 1	97.26		
1.028 08	0.710 4	0.715	1.397 6	96.11		
0.995 63	0.661 7	0.715	1.372 6	99.43		
1.011 46	0.679 1	0.715	1.381 6	98.25		
1.102 76	0.740 3	0.715	1.438 8	97.69		

2.4 样品含量测定

各取3批强力生发丸适量,依法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液与质量浓度为 $23.8 \mu\text{g/mL}$ 的芍药苷对照品溶液各 $10 \mu\text{L}$,按拟订色谱条件进样,记录峰面积值,计算含量。结果见表3。

表3 样品含量测定结果($n=3$)

批号	含量(mg/g)		$\bar{X}$ (mg/g)	RSD (%)
	1	2		
20160403	0.135	0.137	0.136	1.81
20160404	0.139	0.138	0.139	
20160405	0.142	0.140	0.141	

3 讨论

首乌为方中君药,其中二苯乙烯苷类为其活性成分,但由于该类成分在强酸、强碱和遇光条件下易氧化,给操作带来了不少困难,故未选择其作为含量测定的指标成分^[1]。由于建立复方中药制剂的含量测定指标成分时一般首选化学性质稳定且含量较高的成分,不建议选取含量较低的成分^[2],故本研究选用强力生发丸方中臣药白芍中的活性成分芍药苷作为本品含量测定的指标成分。芍药苷的检测方法有HPLC法^[2-4]、紫外分光光度(UV)法^[5]、薄层扫描法^[6]等。采用UV法测定时,供试品溶液中微粒成分会影响吸光度值的响应,从而导致定量不准确;采用薄层扫描法时重复性差,操作较烦琐;而HPLC法的紫外检测器(HPLC-UV)是一种广谱检测器,适用于具有紫外吸收的化学成分分析,其灵敏度较高,稳定性和重复性好,已被广泛用于这类物质的检测。

本研究中对方中当归进行TLC鉴别时,考察了不同的展开剂条件^[2-4],包括甲苯-乙酸乙酯-冰醋酸(90:10:2)、环己烷-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(4:1:1:0.1)和正己烷-乙酸乙酯(9:1)等,结果显示,展开剂为正己烷-乙酸乙酯(4:1)时,分离度最好。另外