

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.13.012

## 酒女贞子配方颗粒质量标准研究

赵淑淑, 姚俊霞, 李 哲, 车梦婷, 许豪杰

(浙江佐力药业股份有限公司, 浙江 湖州 313200)

**摘要:**目的 提高酒女贞子配方颗粒质量标准控制。方法 采用薄层色谱法,以女贞子对照药材作为对照进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定其特征成分特女贞苷含量。结果 薄层色谱鉴别中,供试品溶液色谱在与对照药材溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。特女贞苷在进样量为0.766 46~15.329 19  $\mu\text{g}$ 范围内与峰面积线性关系良好( $r^2=0.999\ 8$ );平均回收率为91.70%,RSD为1.14%( $n=6$ )。结论 该方法简便、准确,重复性良好,完善和提高了酒女贞子配方颗粒的质量标准。

**关键词:**酒女贞子配方颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;特女贞苷;质量研究

中图分类号:R932;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)13-0041-03

### Quality Standard of Wine-Fried *Ligustri Lucidi Fructus* Dispensing Granules

ZHAO Shushu, YAO Junxia, LI Zhe, CHE Mengting, XU Haojie

(Zhejiang Jolly Pharmaceutical Co., Ltd., Huzhou, Zhejiang, China 313200)

**Abstract: Objective** To improve the quality control standard of Wine-Fried *Ligustri Lucidi Fructus* Dispensing Granules. **Methods** TLC method was used for qualitative identification with *Ligustri Lucidi Fructus* as the reference crude drug, and HPLC method was used for content determination of specnuezhenide in Wine-Fried *Ligustri Lucidi Fructus* Dispensing Granules. **Results** In TLC identification, the fluorescence spots in the chromatogram obtained with the test solution corresponded in position and color with the spots in the chromatogram obtained with the reference crude drug solution. The specnuezhenide showed good linear relationship with peak area in the range of 0.766 46~15.329 19  $\mu\text{g}$  ( $r^2=0.999\ 8$ ), the average recovery rate was 91.70% and RSD was 1.14% ( $n=6$ ). **Conclusion** The method is simple, accurate and reproducible, which can improve the quality standard of Wine-Fried *Ligustri Lucidi Fructus* Dispensing Granules.

**Key words:** Wine-Fried *Ligustri Lucidi Fructus* Dispensing Granules; TLC; HPLC; specnuezhenide; research of quality

酒女贞子为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实的酒蒸品,具有增强补肝肾功效,

第一作者:赵淑淑,女,硕士研究生,工程师,研究方向为药物成分分析及质量标准研究,(电子信箱)tracy2937@163.com。

献[11,13],考察了毒性较小的二氯甲烷、二氯甲烷-甲醇(4:1)和二氯甲烷-甲醇(2:1)3种溶剂,并与三氯甲烷做了比较,结果二氯甲烷和三氯甲烷提取效率相同,均高于二氯甲烷-甲醇(4:1)和二氯甲烷-甲醇(2:1)。

试验中进样量为10,20  $\mu\text{L}$ 时,峰形均不好;进样量为5  $\mu\text{L}$ 或小于5  $\mu\text{L}$ 时,峰形良好。故选择进样量5  $\mu\text{L}$ 。

#### 参考文献:

- [1] 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,2015:5-7.
- [2] WS<sub>1</sub>-10001(HD-0204)-2002,国家食品药品监督管理局药品标准[S].
- [3] 张 颖,宋志钊,刘 元. 高效液相色谱法测定“天竺癩康宁胶囊”中胆红素的含量[J]. 安徽医药,2016,20(6):1087-1089.
- [4] 莎日娜,何春龙. HPLC法测定小儿清肺八味丸中胆红素的含量[J]. 中国药师,2014,17(3):520-521.
- [5] 张秀兰,何春龙,李树明. HPLC法测定清肺八味散中胆红素的含量[J]. 现代中药研究与实践,2014,28(2):60-62.
- [6] 王文忠,孙 瑛,何春龙,等. HPLC法测定菊花七味胶囊中胆红素的含量[J]. 中国民族医药杂志,2014,11(11):58-59.
- [7] 张梦轩,张轶华,张 越,等. HPLC法测定4种感冒药制剂人工牛黄或体外培育牛黄中的中胆红素[J]. 中成药,2017,

39(9):1960-1963.

- [8] 李 为,李喜平,张程亮,等. 高效液相色谱法同时测定复方牛黄贴中胆红素和奥硝唑含量[J]. 医药导报,2016,35(10):1101-1104.
- [9] 赵珊珊,罗定强,吴 芳. 高效液相色谱法测定小儿化毒胶囊人工牛黄中胆红素含量[J]. 中国药业,2018,27(6):11-13.
- [10] 宋志龙,熊 鑫,饶俊珍,等. 复方体外培育牛黄凝胶制剂中胆红素、丹皮酚和盐酸小檗碱的含量测定[J]. 中国药师,2016,19(11):2150-2152.
- [11] 王利娜,夏 晶,曹 帅. UV-VIS与HPLC对牛黄类药材中胆红素含量的测定方法及影响因素分析[J]. 上海中医药大学学报,2015,29(1):70-73.
- [12] 曹 帅,夏 晶,杨新华,等. 3种牛黄及安宫牛黄丸中总胆红素含量测定方法的优化[J]. 药物分析杂志,2014,34(2):329-334.
- [13] 夏 晶,曹 帅,沙楠炜,等. 天然牛黄和体外培育牛黄中不同胆红素含量及比例的初步探究[J]. 中国药理学杂志,2017,52(11):971-977.
- [14] 王志平,张艳艳. HPLC法测定稀莪络达胶囊中胆红素的含量[J]. 中国药事,2011,25(6):598-602.
- [15] 范存霞,孙广友,赵小丽,等. HPLC测定氨金黄敏颗粒中胆红素含量[J]. 中国现代中药,2009,11(12):36-37.

(收稿日期:2018-12-03)

用于治疗腰膝酸软、眩晕耳鸣、目暗不明等症状<sup>[1]</sup>。女贞子中主要含有环烯醚萜类、黄酮类、三苯乙醇类、萜类、多糖类等化合物<sup>[2]</sup>,其质量研究多分别针对其水溶性成分中的裂环环烯醚萜类、苯乙醇类和脂溶性成分三萜类,如特女贞苷、木犀草苷、红景天苷、木犀草素等<sup>[3-5]</sup>。酒女贞子较炮制前部分有效成分含量发生了变化,其中红景天苷、5-羟甲基糠醛等含量显著增加,但特女贞苷等成分降低<sup>[6-10]</sup>。近年来,对以女贞子药材为原料,经过炮制、提取、浓缩、干燥等工序制成的酒女贞子配方颗粒,尚未有完整的质量研究报道。本试验中针对酒女贞子配方颗粒进行研究,建立薄层色谱定性检定及高效液相色谱(HPLC)法定量检测的方法,为更好地控制产品质量提供了试验依据,现报道如下。

## 1 仪器与试剂

仪器:安捷伦 1260-G205 型高效液相色谱仪;SARTORIUS BT 25S 型十万分之一电子天平。

试剂:女贞子对照药材(批号为 121041-201404),特女贞苷对照品(批号为 111926-201605),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇(色谱纯,默克公司);水为自制超纯水,其他试剂均为分析纯。酒女贞子配方颗粒(自制,批号分别为 1806001,1806002,1806003)。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

取本品 1.0 g,研细,加水 50 mL 使溶解,用水饱和正丁醇 20 mL 提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,蒸干正丁醇液,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取女贞子对照药材 1 g,加水 100 mL,煎煮 1 h,滤过,滤液自“用水饱和正丁醇 20 mL 提取 3 次”起,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法[2015 年版《中国药典(四部)》通则 0502]试验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105℃ 加热 2 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点。结果见图 1。

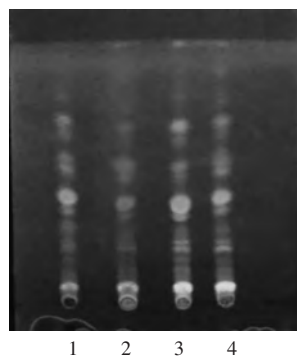
### 2.2 特女贞苷含量测定

#### 2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Phenomenex C<sub>18</sub> 柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇-水(40:60);流速:1.0 mL/min;柱温:35℃;进样量:10  $\mu$ L;检测波长:224 nm。理论板数按特女贞苷峰计应不低于 4 000。

#### 2.2.2 溶液制备

取特女贞苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含特女贞苷 0.1 mg 的溶液,即得对照品溶液。取



1. 女贞子对照药材(批号 121041-201404)

2-4. 供试品(批号分别为 1806001,1806002,1806003)

图 1 酒女贞子配方颗粒薄层鉴别色谱图

本品粉末约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,取出,放冷,再称定质量,用 50% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

#### 2.2.3 方法学考察

专属性试验:按处方比例称取辅料,混匀,同法制成阴性样品,并按照供试品的处理方法制备缺酒女贞子的阴性对照品溶液,依法进样。结果表明,阴性对照品溶液色谱中,在与特女贞苷相应的保留时间无色谱峰出现,表明辅料对特女贞苷的测定无干扰。

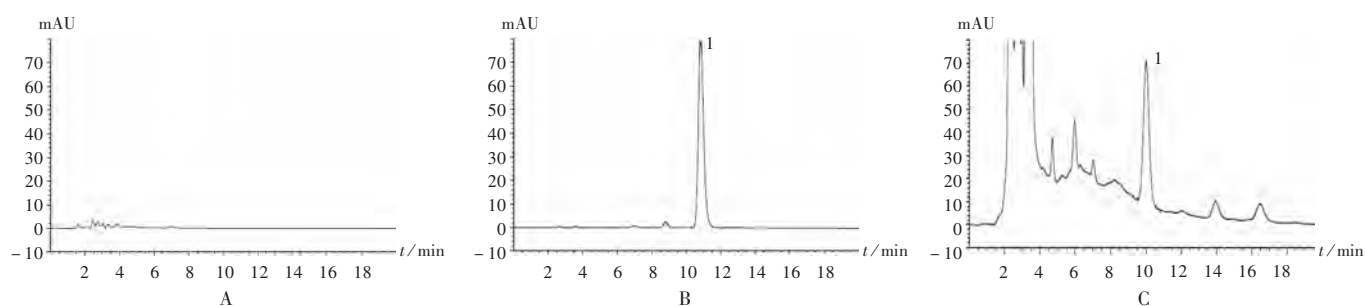
线性关系考察:取质量浓度分别为 1 532.9,766.4,459.8,306.5,153.2,122.6,76.6  $\mu$ g/mL 特女贞苷对照品溶液各 10  $\mu$ L,按拟订色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标(Y)、进样量为横坐标(X,  $\mu$ g)进行线性回归,得回归方程为  $Y = 1\,154.8X - 35.474$ ,  $r^2 = 0.999\,8$  ( $n = 7$ )。结果表明,特女贞苷进样量在 0.766 46 ~ 15.329 19  $\mu$ g 范围内与峰面积线性关系良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为 CP-180601,含量 5.9 mg/g)0.5 g,精密称定 6 份。分别加入特女贞苷对照品适量,按供试品溶液制备方法处理并进样检测,计算回收率。结果见表 1。

表 1 特女贞苷加样回收试验结果( $n = 6$ )

| 称样量(g)  | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) |
|---------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 0.503 2 | 2.968 9  | 2.96    | 5.701 6 | 92.32  | 91.70         | 1.14   |
| 0.504 1 | 2.974 2  | 3.10    | 5.863 6 | 93.21  |               |        |
| 0.502 4 | 2.964 2  | 3.06    | 5.720 6 | 90.08  |               |        |
| 0.503 3 | 2.969 5  | 3.12    | 5.831 5 | 91.73  |               |        |
| 0.502 3 | 2.963 6  | 2.99    | 5.698 2 | 91.46  |               |        |
| 0.500 5 | 2.953 0  | 3.07    | 5.758 8 | 91.39  |               |        |

重复性试验:取同一批(批号为 CP-180601)样品供试液,按拟订色谱条件进样。结果平均含量为 5.975 1 mg/g, RSD 为 0.81% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。



1. 特女贞苷

A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液(批号为 CP-180601)

图2 高效液相色谱图

**精密性试验:**取同一样品(批号为 CP-180601)供试液,按拟订色谱条件,重复进样6次,测定特女贞苷峰面积。结果平均峰面积为1483.6,  $RSD$  为0.26% ( $n=6$ ),表明仪器精密性良好。

**稳定性试验:**取同一样品(批号为 CP-180601)供试液,按拟订色谱条件,分别于0,2,4,8,12,18,24 h时进样,测定特女贞苷峰面积。结果平均峰面积为1430.49,  $RSD$  为0.66% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定。

**耐用性试验:**考察不同柱温、流速、流动相比比例、色谱柱对本色谱条件的耐用性。结果表明,各个条件下测定结果基本一致,  $RSD\%$  均低于3%,色谱图中特女贞苷峰形尖锐、对称,分离度良好,表明方法耐用性良好。

#### 2.2.4 样品含量测定

采用拟订色谱方法,取3批样品,依法测定。结果批号为1806001,1806002,1806003的样品中特女贞苷含量分别为13.5,13.7,13.9 mg/g,  $RSD$  分别为0.82%,0.63%,0.58%。

### 3 讨论

供试品制备过程中,曾以甲醇、50%甲醇、稀乙醇、50%乙醇作为溶剂进行超声提取。结果表明,甲醇及50%甲醇作为溶剂,峰形不佳;相较稀乙醇提取,50%乙醇作为溶剂,供试品液中特女贞苷含量显著上升,故选择50%乙醇作为提取溶剂。曾比较了50%乙醇加热回流30 min、超声提取30 min,结果表明,两者含量测定结果无明显差异,考虑试验效率等因素,故确定提取方式为超声处理30 min。

尝试采用不同柱温(30,35,40℃)对特女贞苷分离度的影响,结果显示,在35℃时色谱基线平稳,且分离度较好,故柱温选择35℃。

配方颗粒是由药材经炮制、提取、浓缩、干燥、制粒等系列工序后加工制成的,保留原有药效外,还具有方便、快捷等特点。本研究中以女贞子对照药材代替特女贞苷对照品作为对照进行定性鉴别,更能体现和控制配方颗粒对女贞子药材的信息传承。供试品溶液色谱斑点清晰、分离度佳,重现性良好。

在质量控制评价方面,现行的中药配方颗粒质量标准多采用对某有效成分进行含量测定。中药是多成分的整体作用,由于中药配方颗粒是经过多工序加工而成,失去原有饮片的形态,在质量控制上缺少饮片性状等重要指标,因此在质量控制标准制定中必须加强专属性鉴别和整体性质量控制<sup>[10]</sup>。

本研究中采用HPLC法建立了酒女贞子中特女贞苷的测定方法,操作简单,稳定性好,可有效用于酒女贞子配方颗粒产品的质量控制。本方法从整体方面及有效成分检测方面,具有简便、有效、快捷等优点,能提升酒女贞子配方颗粒的质量控制水平,保障配方颗粒女贞子药材信息的传承。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:45-46.
- [2] 张金玲,王小虎,邓振涛,等. 中药女贞子化学成分及药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2013,22(36):4100-4101.
- [3] 张兴辉,石力夫. 中药女贞子化学成分的研究(I)[J]. 第二军医大学学报,2004,25(3):333-334.
- [4] 石力夫,王鹏,陈海生,等. 中药女贞子水溶性化学成分的研究[J]. 药学报,1995,30(12):935-938.
- [5] 石力夫,曹颖琰,陈海生,等. 中药女贞子中水溶性成分二种新裂环烯醚萜甙的分离和鉴定[J]. 药学报,1997,32(6):442-446.
- [6] 赵资堂,张学兰,李慧芬,等. 女贞子炮制过程中2种三萜类成分及水溶性低分子糖含量变化规律研究[J]. 辽宁中医杂志,2012,39(12):2454-2457.
- [7] 侯杰. 女贞子炮制前后主要有效成分变化规律研究[D]. 济南:山东中医药大学,2009.
- [8] 张学兰,侯杰,李慧芬,等. 炮制对女贞子中特女贞苷含量的影响[J]. 中药材,2009,32(4):498-500.
- [9] 王瑞芳,张学兰,鹿栋尧,等. 女贞子不同工艺炮制品中红景天苷和酪醇含量比较[J]. 中成药,2009,31(1):85-88.
- [10] 周蔚昕,刘涛,徐玉玲,等. 对《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》(征求意见稿)部分内容的探讨[J]. 时珍国医国药,2017,28(10):2491-2493.

(收稿日期:2018-11-23)