

- [3] 郑媛媛,黄赵刚,程刚,等.3kGy<sup>60</sup>Co-γ 辐照对制痲酊中黄芩苷和小檗碱的影响[J].中成药,2013,35(8):1819-1821.
- [4] 王二兵,赵正保,曲婷丽.<sup>60</sup>Co 辐照灭菌对止嗽立效口服液主要成分的影响[J].中成药,2013,35(9):2056-2058.
- [5] 彭晓霞,张振巍,张娜娜.赤芍药材辐照前后芍药苷含量变化研究[J].药物分析杂志,2010,30(3):522-525.
- [6] 孙建宇,何富根,陈红梅,等.<sup>60</sup>Co-γ 射线辐照对中药地黄和龙胆有效成分的影响[J].中国医院药学杂志,2009,29(1):39-41.
- [7] 李月梅,刘卫红,张娜娜,等.<sup>60</sup>Co-γ 射线辐照前后大黄饮片中 5 种成分的含量变化研究[J].中国药房,2013,24(3):254-256.
- [8] 黄赵刚,陈泳伍,程刚,等.不同剂量钴-60 辐照对制痲酊中儿茶素和表儿茶素含量的影响[J].中国药师,2011,14(10):1463-1464.
- [9] 牟学文,田喜莲.<sup>60</sup>Co-γ 辐照对红花药材及醇提取物羟基红花黄色素 A 的影响[J].中国药事,2012,26(3):232-234.
- [10] 宋九华,成英,刘素君.钴-60 辐照对川贝活性成分的影响[J].化学研究与应用,2012,24(3):459-462.

## 盐杜仲配方颗粒的质量标准\*

胡辉<sup>1</sup>,龙林<sup>1</sup>,刘重阳<sup>1</sup>,李先芝<sup>1</sup>,梅之南<sup>2</sup>

(1.劲牌生物医药有限公司,黄石 435100;2.中南民族大学药学院,武汉 430074)

**摘要** **目的** 建立杜仲炮制品盐杜仲配方颗粒的质量标准。**方法** 采用醇溶热浸法测定盐杜仲配方颗粒的浸出物,采用高效液相色谱法对盐杜仲配方颗粒中松脂醇二葡萄糖苷进行含量测定,分别对 Agilent 1260 系列高效液相色谱仪与 Waters 高效液相色谱仪和不同品牌色谱柱进行考查,建立盐杜仲配方颗粒指纹图谱。**结果** 松脂醇二葡萄糖苷进样量在 102.8~2 056.0 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系 ( $R^2=0.999\ 9$ ),标准曲线为:  $Y=2.959\ 4X+3.282\ 5$ ,平均加样回收率为 99.85% (RSD=0.31%, $n=9$ )。**结论** 所采用方法可行,重复性好,可有效控制盐杜仲中药配方颗粒的质量。

**关键词** 盐杜仲;配方颗粒;质量标准;松脂醇二葡萄糖苷;色谱法,高效液相

**中图分类号** R286;R927.2 **文献标识码** B **文章编号** 1004-0781(2018)02-0219-04

**DOI** 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.02.019

## Quality Standards of Salt Eucommia Dispensing Granules

HU Hui<sup>1</sup>, LONG Lin<sup>1</sup>, LIU Chongyang<sup>1</sup>, LI Xianzhi<sup>1</sup>, MEI Zhinan<sup>2</sup> (1. *Jing Brand Bio-Medicine Co., Ltd, Huangshi 435100, China*; 2. *School of Pharmaceutical Sciences, South-central University for Nationalities, Wuhan 430074, China*)

**ABSTRACT** **Objective** To establish the quality standards for salt eucommia dispensing granules. **Methods** The extractives were obtained by alcohol extraction method. HPLC was applied for the determination of pinoresinol diglucoside in dispensing granules. HPLC fingerprints were established by the contrast of Agilent 1260 HPLC, Waters HPLC and various chromatogram column. **Results** Pinoresinol diglucoside showed a good linear relationship ( $Y=2.959\ 4X+3.282\ 5$ ,  $R^2=0.999\ 9$ ) at 102.8-2 056.0 mg·L<sup>-1</sup> with average recovery of 99.85% (RSD=0.31%, $n=9$ ). **Conclusion** The method is easy-operated and accurate, which has a good specificity for the quality control of common salt eucommia dispensing granules.

**KEY WORDS** Salt eucommia; Dispensing granules; Quality standards; Pinoresinol diglucoside; Chromatography, high performance liquid

盐杜仲具有补肝肾、强筋骨、安胎作用,用于肝肾不足,腰膝酸痛,筋骨无力,头晕目眩,妊娠漏血,胎动

不安<sup>[1]</sup>,具有松脂醇二葡萄糖苷等木质素类成分<sup>[2]</sup>,具有很好功效,在《神农本草经》中被称为上品,广泛应用临床。同时杜仲作为湖北省大别山区道地药材,建立盐杜仲配方颗粒质量标准对于更好、更便捷地应用于临床具有十分重要的意义<sup>[3-4]</sup>。多年来,中药配方颗粒以灵活调配,使用方便等优点逐渐被临床认可,虽然目前配方颗粒的生产仍处于试点阶段,但其未来作为重要饮片的补充甚至并列品种已是大势所趋<sup>[5]</sup>。

**收稿日期** 2017-05-12 **修回日期** 2017-06-20

**基金项目** \* 2016 年湖北省技术创新专项重大项目 (2016ACA142)

**作者简介** 胡辉 (1983-),男,湖北大冶人,医药工程师,学士,主要从事中药资源与制剂研究。电话:0714-3188791, E-mail:15972368370@163.com。

盐杜仲配方颗粒以《中华人民共和国药典》规定盐杜仲饮片为原料,通过水煎煮,滤过,浓缩,干燥,制粒等流程制成,其性味归经,功能主治与盐杜仲相同,笔者在本实验以 2015 年版《中华人民共和国药典》中盐杜仲的质量标准为参考,建立盐杜仲配方颗粒的质量标准。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 美国 Agilent 1260 系列高效液相色谱仪, Waters2695 高效液相色谱仪 (G1311A 四元梯度泵, G1329B 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1314BVWD 检测器), 色谱柱: Agilent C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Sepax HP C<sub>18</sub> (4.6 mm×250mm, 5 μm); AB135-S 电子天平 (感量: 0.01 mg); 纯水机 (ELGA Option-Q, 超纯水系统)。

**1.2 试剂** 松脂醇二葡萄糖苷对照品 (批号: 110737-200415)、京尼平苷酸对照品 (批号: 111828-201102)、绿原酸对照品 (批号: 110753-200413), 均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 盐杜仲 (湖北正光九资河药业有限公司), 经中南民族大学药学院梅之南教授鉴定为杜仲科植物杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.) 干燥树皮的干燥炮制品盐杜仲。盐杜仲配方颗粒 (劲牌生物医药有限公司, 批号: P20151113, P20151117, P20151121, P20151123, P20151124, P20151125, P20151126, P20151129, P20151201, P20151202, 规格: 每袋 1 g, 相当于饮片 15 g)。

## 2 方法与结果

**2.1 浸出物** 取各批次的盐杜仲配方颗粒, 研细, 过孔径 (250±9.9) μm (四号筛), 取 2~4 g, 按照《中华人民共和国药典》2015 年版醇溶性浸出物测定法项下热浸法测定, 以 75% 乙醇作溶剂进行测定, 测定值在 83.35%~83.97%。10 批颗粒的浸出物平均值为 83.65%, RSD 值为 0.25% ( $n=10$ ), 说明各批次药材稳定性良好、数据可靠, 浸出物限度值按测定结果平均值 80% 计算, 因此暂定浸出物限度值为 ≥66.92%。

**2.2 色谱条件** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 乙腈: 水 = 20: 80; 检测波长为 277 nm; 柱温为 30 ℃; 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。理论板数按松脂醇二葡萄糖苷峰计算应不低于 1 000<sup>[6]</sup>。

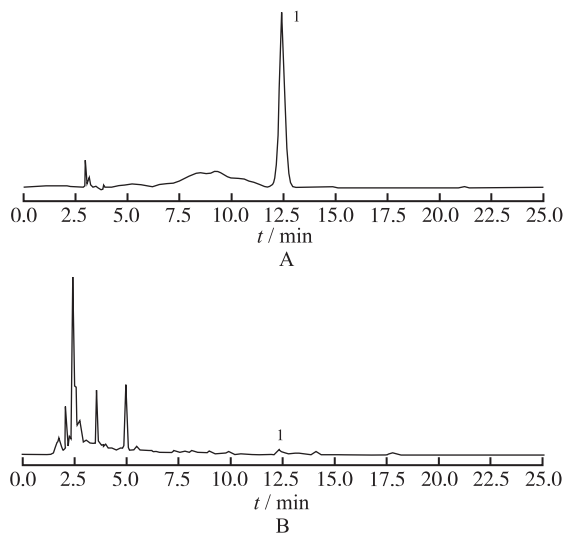
### 2.3 溶液的制备

**2.3.1 对照品溶液的制备** 精密称取松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷酸、绿原酸对照品各 20, 10, 10 mg, 分别置于 10 mL 量瓶, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.3.2 供试品溶液的制备** 取本品粉末约 0.20 g, 精

密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加入 20% 甲醇超声溶解并定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 专属性实验** 取对照品溶液及供试品溶液, 按上述色谱条件进行分析。结果表明, 盐杜仲配方供试品溶液与松脂醇二葡萄糖苷对照品溶液在相同的保留时间上都有色谱峰, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 松脂醇二葡萄糖苷

图 1 松脂醇二葡萄糖苷对照品和盐杜仲配方颗粒供试品色谱图

A. reference substance; B. test sample; 1. pinoresinol diglucoside

Fig. 1 Chromatogram of pinoresinol diglucoside reference substance and salt eucommia dispensing granules test sample

**2.5 线性关系考察** 精密称取松脂醇二葡萄糖苷对照品 20.56 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 即得 2 056.0 mg·L<sup>-1</sup> 松脂醇二葡萄糖苷对照品储备溶液。然后依次精密吸取松脂醇二葡萄糖苷对照品储备溶液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 制备成 102.8, 205.6, 411.2, 822.4 mg·L<sup>-1</sup> 松脂醇二葡萄糖苷对照品供试品溶液。取上述对照品溶液及储备液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积分别为: 302.4, 612.2, 1 219.3, 2 445.6, 6 084.7。以质量浓度 ( $X$ ) 为横坐标, 峰面积为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线, 标准曲线为:  $Y=2.959\ 4X+3.282\ 5$ ,  $R^2=0.999\ 9$  ( $n=5$ ); 结果表明, 松脂醇二葡萄糖苷在 102.8~2 056.0 mg·L<sup>-1</sup> 浓度范围内线性关系良好。

**2.6 重复性实验** 取同一批号盐杜仲配方颗粒 (批号: P20151113), 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液 6 份, 分别测定松脂醇二葡萄糖苷含量。计算得到松脂醇二葡萄糖苷的平均含量为 0.98%, 含量 RSD =

1.81% ( $n=6$ ), 结果表明重复性良好。

**2.7 精密度实验** 取“2.6”项下供试品溶液, 按上述色谱条件, 重复进样 6 次, 测定松脂醇二葡萄糖苷峰面积, 分别为 590.3, 588.2, 592.4, 590.8, 592.1, 589.7, 峰面积 RSD=0.26%, 表明精密度良好。

**2.8 稳定性实验** 取同一盐杜仲配方颗粒 (批号: P20151113) 供试液, 按“2.2”项色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样, 测定松脂醇二葡萄糖苷峰面积, 分别为 590.3, 590.8, 592.4, 593.8, 592.1, 594.7, 峰面积 RSD=0.29%, 结果表明松脂醇二葡萄糖苷在 12 h 内稳定。

**2.9 加样回收率实验** 取已知含量的同一批样品 (P20151113, 松脂醇二葡萄糖苷含量: 0.98%) 9 份, 精密称定, 分别精密加入松脂醇二葡萄糖苷对照品溶液适量, 按“2.3.2”项下方法, 制备供试品溶液, 进样测定, 见表 1。结果平均加样回收率为 99.85%, RSD = 0.31% ( $n=9$ ), 表明准确度良好。

表 1 松脂醇二葡萄糖苷加样回收实验结果

Tab.1 Recovery result of pinoresinol diglucoside

$n=9$

取样量/ g	原含量	加样量 mg	测得量	回收率/ %
0.100 9	0.997 6	1.644 8	2.647 7	100.32
0.100 4	0.992 2	1.644 8	2.632 0	99.70
0.100 2	0.990 2	1.644 8	2.631 1	99.76
0.099 9	0.987 7	2.056 0	3.031 5	99.41
0.100 6	0.994 6	2.056 0	3.044 4	99.70
0.100 3	0.991 7	2.056 0	3.052 9	100.25
0.101 1	0.999 6	2.467 2	3.469 8	100.12
0.100 6	0.994 6	2.467 2	3.455 3	99.74
0.100 8	0.996 6	2.467 1	3.454 9	99.64

**2.10 含量测定** 取各批次的盐杜仲配方颗粒适量, 按“2.3.2”项下方法制备, 精密吸取供试品溶液各 5  $\mu$ L, 注入 HPLC 仪, 结果各批次盐杜仲配方颗粒松脂醇二葡萄糖苷含量在 0.934 1% ~ 1.116 5%, 平均含量为 0.98%, RSD=5.25% ( $n=10$ ), 说明各批次配方颗粒有效成分含量稳定。含量限度按测定结果平均值的 80% 计算, 因此暂定含量限度以松脂醇二葡萄糖苷计算, 不得少于 0.78%。

**2.11 指纹图谱研究**

**2.11.1 特征峰鉴定** 按照“2.2”项色谱条件, 吸取对照品溶液和供试品溶液进样测定, 以保留时间相近为原则, 通过对照品比对确认京尼平苷酸、绿原酸、松脂

醇二葡萄糖苷共 3 个特征共有峰。色谱峰标记见图 2, 对照品保留时间见表 2。

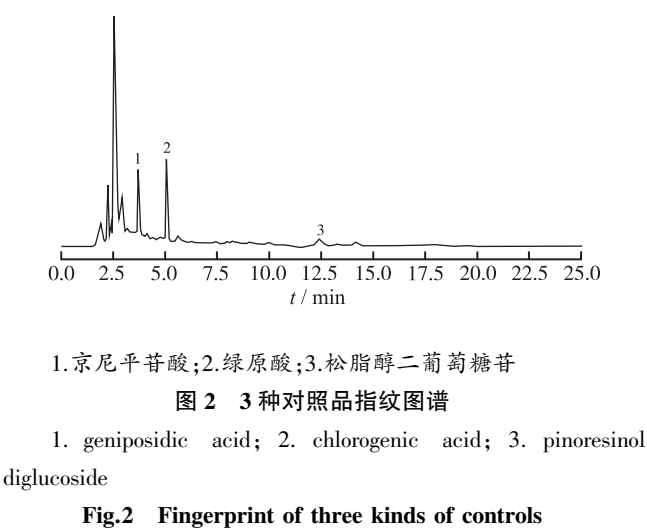


表 2 3 种对照品 HPLC 图谱保留时间

Tab.2 HPLC retention time of three kinds of reference substance

$n=9$

峰号	对照品	峰面积值	保留时间/min
1	京尼平苷酸	2 915.6	3.777
2	绿原酸	3 427.1	5.138
3	松脂醇二葡萄糖苷	590.3	12.431

**2.11.2 指纹图谱** 各批次的盐杜仲配方颗粒相互之间相似度均>93.9%, 说明各批次盐杜仲配方颗粒稳定性良好, 并且具备整体系统性和单味盐杜仲配方颗粒的特征性。见图 3, 表 3。

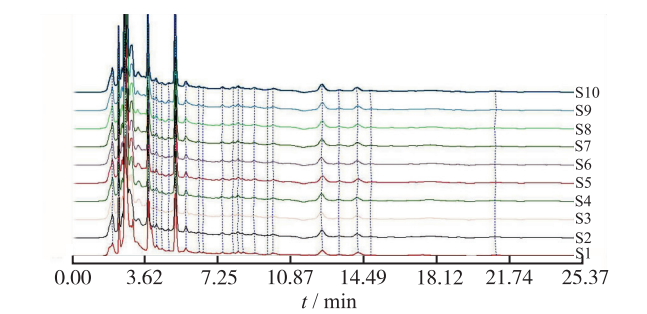


图 3 10 批盐杜仲配方颗粒指纹图谱

Fig.3 Fingerprint of ten batches of salt eucommia dispensing granules

**2.11.3 仪器考察** 高效液相色谱仪考察: 采用同一支色谱柱, 分别用 Agilent 1260 系列高效液相色谱仪与 Waters2695 高效液相色谱仪采用相同的色谱条件

表 3 10 批盐杜仲配方颗粒相似度测定结果

Tab.3 Similarity test on ten batches of salt cucmmia dispensing gramules

批次	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	Sn
S1	1.000	0.939	0.961	0.963	0.947	0.969	0.973	0.970	0.971	0.980	0.970
S2	0.939	1.000	0.954	0.956	0.957	0.990	0.964	0.991	0.991	0.963	0.971
S3	0.961	0.954	1.000	1.000	0.971	0.979	0.977	0.975	0.976	0.992	0.989
S4	0.963	0.956	1.000	1.000	0.974	0.982	0.980	0.978	0.978	0.994	0.991
S5	0.947	0.957	0.971	0.974	1.000	0.975	0.992	0.971	0.971	0.980	0.985
S6	0.969	0.990	0.979	0.982	0.975	1.000	0.985	0.999	0.999	0.988	0.992
S7	0.973	0.964	0.977	0.980	0.992	0.985	1.000	0.984	0.983	0.993	0.994
S8	0.970	0.991	0.975	0.978	0.971	0.999	0.984	1.000	0.999	0.986	0.989
S9	0.971	0.991	0.976	0.978	0.971	0.999	0.983	0.999	1.000	0.986	0.989
S10	0.980	0.963	0.992	0.994	0.980	0.988	0.993	0.986	0.986	1.000	0.997
Sn	0.970	0.971	0.989	0.991	0.985	0.992	0.994	0.989	0.989	0.997	1.000

对同一样品进行分析。并对得到的色谱图进行相似度的计算,结果表明不同品牌高效液相色谱仪的适应性好。

色谱柱考察:采用同一台仪器、相同的色谱分析条件,不同的色谱柱对同一样品进行色谱分析,并对分析得到的色谱图进行相似度的计算。分析用的色谱柱自上而下分别为:Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Diamonsil C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5 μm)、Sepax HP C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)。结果表明该方法对不同品牌色谱柱适应性好。

根据 10 批次盐杜仲配方颗粒指纹图谱相似度良好(均>93.9%),具有良好的稳定性和特征性,暂定盐杜仲配方颗粒指纹图谱相似度≥90%。

### 3 讨论

将盐杜仲饮片制备成盐杜仲配方颗粒,不仅可以保留原生药的性味、主要有效成分以及功用效果,还能提高用药的便捷性和药方调配的灵活性。

本实验按《中华人民共和国药典》醇溶性浸出物测定法项下热浸法测定,用 75%乙醇作溶剂,得到 10 批次盐杜仲配方颗粒浸出物,结果平均值为 83.65%,根据以上结果,调低 20%,拟定盐杜仲配方颗粒浸出物不得少于 66.92%。10 批次样品的浸出物含量均高于该限度值,以上结果可为盐杜仲配方颗粒浸出物含量限度提供参考。

研究表明,松脂醇二葡萄糖苷是盐杜仲的主要有效成分<sup>[2]</sup>。笔者在本实验建立 HPLC 法测定盐杜仲配方颗粒中松脂醇二葡萄糖苷含量,并对该方法的专属

性、线性关系、精密度、稳定性、重复性以及加样回收率进行考察,结果表明该方法针对性强、效果良好。实验中所用 10 个批次样品规格均为每袋 1 g,相当于饮片 15 g,计算含量结果时,以质量百分数计,便于统一限度。根据实验结果,10 批次盐杜仲配方颗粒指纹图谱相似度良好,具有良好的稳定性、系统性和特征性,暂定杜仲配方颗粒指纹图谱相似度≥90%。松脂醇二葡萄糖苷含量平均值为 0.98%(RSD=5.25%,n=10),初步拟定含量限度为不少于 0.78%。10 批次样品的松脂醇二葡萄糖苷均高于该限度值,以上结果可为盐杜仲配方颗粒中松脂醇二葡萄糖苷含量限度提供参考。

综上所述,本实验建立盐杜仲配方颗粒的质量标准,浸出物限度设置合理,主要有效成分松脂醇二葡萄糖苷含量测定操作简便,结果准确,专属性强,含量限度设置合理,可作为盐杜仲配方颗粒的质量控制。

### 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,2015:165-166.

[2] 吕志阳,狄留庆,赵晓莉,等.盐杜仲饮片质量标准研究[J].中药材,2010,33(1):30-33.

[3] 曹宇.杜仲盐炙的化学成分和质量研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2009.

[4] 赵骏铭.盐杜仲的化学成分与质量标准研究[D].延吉:延边大学,2010.

[5] 仇法新,高福君.中药配方颗粒的发展现状及应用前景[J].中国药房,2007,18(3):163-165.

[6] 范彦博,袁明洋,张义生.四川产杜仲药材高效液相色谱指纹图谱的建立[J].医药导报,2016,35(10):1121-1124.