

# 瑶药瑞香通养助孕胶囊质量控制研究\*

## Study on Quality Control Standards of Yao Medicine Ruixiangtongyangzhuyun Capsules

梁 威<sup>1,2</sup>,刘 元<sup>1,2\*\*</sup>,宋志钊<sup>1,2</sup>,文志云<sup>1,2</sup>

LIANG Wei<sup>1,2</sup>,LIU Yuan<sup>1,2</sup>,SONG Zhi-zhao<sup>1,2</sup>,WEN Zhi-yun<sup>1,2</sup>

(1. 广西中医药研究院,广西南宁 530022;2. 广西中药质量标准研究重点实验室,广西南宁 530022)

(1. Guangxi Institute for Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China)

**摘要:**【目的】建立瑶药瑞香通养助孕胶囊质量标准。【方法】采用 TLC 法对处方中毛瑞香和地榆进行定性鉴别,并采用 HPLC 法测定岩白菜素的含量。【结果】毛瑞香和地榆薄层色谱图斑点清晰,重现性好,无干扰;岩白菜素在  $10.5\sim 168.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  线性良好,  $r=0.9998$ , 平均回收率为 98.9%, RSD 为 1.23% ( $n=6$ )。【结论】建立的质量控制方法可有效控制瑶药瑞香通养助孕胶囊的质量。

**关键词:**瑞香通养助孕胶囊 瑶药 TLC HPLC 岩白菜素

中图分类号:R286 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2015)06-0627-04

**Abstract:**【Objective】This study was conducted to set up the quality control standards of Yao medicine Ruixiangtongyangzhuyun capsules.【Methods】*Daphnes atrocaulis* Herbs and garden burnet were identified qualitatively by TLC methods, while bergenin content was determined by HPLC method.【Results】The TLC figures of the two extracts were distinct, reproducible and noninterference. The calibration curves were linear in the range of  $10.5\sim 168.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  for bergenin ( $r=0.9998$ ), average recovery of bergenin was 98.9%, and RSD was 1.23% ( $n=6$ ).【Conclusion】The quality of Yao medicine Ruixiangtongyangzhuyun capsule can be effectively controlled by these quality standards.

**Key words:** Ruixiangtongyangzhuyun capsules, Yao medicine, TLC, HPLC, bergenin

## 0 引言

【研究意义】广西中医药研究院在 1976 年药用植

物资源普查时多次进入瑶乡瑶寨,对瑶族民间口碑流传的“五虎、九牛、十八钻、七十二风”104 味传统瑶药的名称、来源及功用进行系统的调查和整理研究,对民间有效治疗疑难病症的瑶医药偏方、秘方及验方进行了挖掘和整理,并对其中多种药材的化学成分进行提取分离鉴定和药理学的初筛研究。在此基础上研究开发出瑶药瑞香通养助孕胶囊,其主要由毛瑞香、四方藤等瑶药组成,具有活血调经,通经活络,祛瘀生新,暖宫助孕功效,可用于宫寒所致女性不孕。利用瑶药开发研制成新的民族制剂,对开发利用少数民族地区资源和带动地区特色药材种植与栽培等相关上、下游产业具有积极作用。【前人研究进展】四方藤(翼

收稿日期:2015-08-10

修回日期:2015-10-20

作者简介:梁 威(1978-),男,助理研究员,主要从事药理学研究及科研管理。

\* 广西科技攻关项目(桂科攻 1346008-7),广西卫生厅重点科研课题项目(重 S201308-06)和广西瑶族习用药材质量评价与标准研究项目(MZY2012025)资助。

\*\* 通讯作者:刘 元(1963-),女,高级实验师,主要从事中药药理学研究与新药开发,E-mail:liuyuan0821@vip.163.com。

茎白粉藤、四方钻) 别名红四方藤,为葡萄科植物戟叶白粉藤 *Cissus hastata* (Miq.) Planch. 的全株。据报道<sup>[1]</sup>,四方藤中含有岩白菜素约 0.15%。毛瑞香又名一身保暖、铁牛皮、野梦花等,毛瑞香的全草中含有降香萜醇乙酸酯、 $\beta$ -谷甾醇、胡萝卜苷、伞型花内酯、7-甲氧基-8-羟基香豆素、西瑞香素、芹菜素、木犀草素等<sup>[2]</sup>。地榆又名马连鞍,茎叶含槲皮素、熊果酸、维生素 C;此外,还有黄酮、蒽醌、甾体类等多种化学成分。其中皂苷、鞣质和黄酮类 3 类物质与地榆的药理作用机制和生理活性密切相关<sup>[3]</sup>。【本研究切入点】目前对毛瑞香的研究主要集中在化学方面,没有薄层色谱法进行检识的文献报道,也没有对瑞香通养助孕胶囊的含量测定进行研究的文献报道。【拟解决的关键问题】探索瑶药瑞香通养助孕胶囊质量控制方法,建立毛瑞香、地榆的薄层色谱方法;采用 HPLC 法<sup>[4]</sup>建立瑞香通养助孕胶囊中岩白菜素的含量测定方法,为制定瑶药瑞香通养助孕胶囊质量标准提供前期研究基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

YOKO-ZS 紫外分析摄影仪(武汉药科新技术开发公司);苏州岛津 LC-10ATVP 液相色谱仪。KQ-100VDB 超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);AL-104 万分之一电子天平(梅特勒-托利多公司)。

聚酰胺薄膜(批号 20120712,浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂);薄层层析硅胶 G 预制板(批号 20121108,青岛海洋化工有限公司)。

毛瑞香对照药材(批号 080405,产于金秀县),植物腊叶标本经本院中药所赖茂祥研究员鉴定;岩白菜素对照品(批号 111532-201203)和地榆对照药材(批号 121286-200402)均购于中国药品生物制品检定院;水为超纯水,其余所用试剂均为分析纯。

样品:瑶药瑞香通养助孕胶囊,广西忠宁制药有限公司提供(批号 130313,130314,130315,130401,130402,130403)。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 薄层鉴别

供试品 1 溶液制备:取瑞香通养助孕胶囊内容物 2.0 g,置具塞锥形瓶中,加入 20 mL 甲醇,超声 30 min,放冷,过滤,滤液置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解。

毛瑞香(地榆)对照药材溶液制备:取毛瑞香(地榆)对照药材 1.0 g,按照供试品 1 溶液方法制备。

缺毛瑞香(地榆)阴性样品溶液制备:按瑶药瑞香

通养助孕胶囊处方取缺毛瑞香(地榆)的各味药材,制备缺毛瑞香(地榆)的阴性样品,按照供试品 1 溶液方法制备。

毛瑞香薄层板点样:精密吸取制备好的供试品 1 溶液、毛瑞香对照药材溶液、缺毛瑞香阴性样品溶液各 2  $\mu$ L,分别点于同一聚酰胺薄膜上。

毛瑞香薄层色谱条件:以冰醋酸-水(4:6,V:V)为展开剂展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。

地榆薄层板点样:吸取供试品 1 溶液 3  $\mu$ L、地榆对照药材溶液 1  $\mu$ L、缺地榆阴性样品溶液 3  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上。

地榆薄层色谱条件:以三氯甲烷-丙酮(4:2,V:V)为展开剂展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸试液,105 $^{\circ}$ C 热风吹至斑点显色清晰。

#### 1.2.2 岩白菜素含量测定

色谱条件:以 Wondasil-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m)为色谱柱;以甲醇-水(20:80,V:V)为流动相,流速为 1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;检测波长为 286 nm;进样量 10  $\mu$ L;柱温为室温;理论塔板数按岩白菜素色谱峰计应不少于 3000。

供试品 2 溶液的制备:取瑞香通养助孕胶囊内容物 10 粒,混匀,取约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加流动相 20 mL,超声 30 min,放冷,加流动相至刻度,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品 2 溶液。

岩白菜素对照品溶液的制备:精密称定岩白菜素对照品 10.5 mg,置 25 mL 棕色量瓶中,用流动相溶解完全后,加流动相至刻度,摇匀,备用(420  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>);精密吸取 0.75 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得(31.5  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>)。

缺四方藤阴性样品溶液的制备:按瑶药瑞香通养助孕胶囊处方取缺四方藤的各味药材,制备缺四方藤的阴性样品,取 0.2 g,按供试品 2 溶液制备方法制备,即得。

标准曲线的测定:分别精密吸取 420  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>岩白菜素对照品溶液 0.25 mL、0.5 mL、0.75 mL、1.0 mL、2.0 mL、4.0 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,按上述色谱条件,分别进样 10  $\mu$ L,测定,以峰面积积分值对岩白菜素对照品进样浓度( $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>)进行线性回归分析。

专属性试验:分别吸取岩白菜素对照品溶液、供试品 2 溶液及缺四方藤阴性样品溶液各 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,绘制色谱图。

精密度试验:取同一批号(130401)样品溶液 1 份,按上述色谱条件,连续进样 6 次,计算供试品 2 溶

液中岩白菜素色谱峰峰面积 RSD 值。

**重现性试验:**取同一批号(130401)样品,按供试品 2 溶液的制备方法制备 6 份,按上述色谱条件,测定,计算瑞香通养助孕胶囊中岩白菜素的平均含量及 RSD 值。

**稳定性试验:**取新鲜配制的同一批号(130401)样品溶液 1 份,每隔 4 h 进样 1 次测定,计算供试品 2 溶液中岩白菜素色谱峰峰面积 RSD 值。

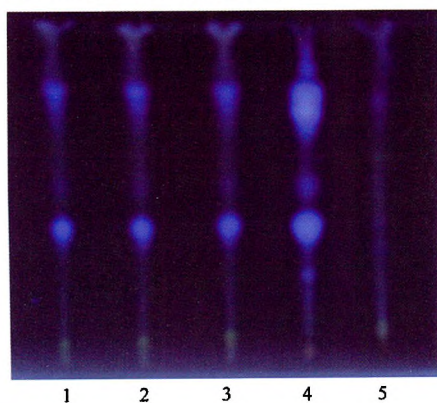
**加样回收试验:**取已测知含量的同一批号(批号 130401)内容物 0.1 g(含量:1.28 mg/粒)6 份,精密称定,分别加入  $420 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  岩白菜素对照品溶液 0.9 mL,即加入量为  $378.0 \mu\text{g}$ ,按供试品 2 溶液的制备方法,平行 6 份,依法测定,计算回收率。

**样品测定:**按上述供试品 2 的制备方法制备供试品溶液,按照上述色谱条件,分别对 6 个批号的样品进行测定,以峰面积按外标一点法计算岩白菜素含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 薄层鉴别

样品色谱中,在与毛瑞香对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点( $R_f=0.42$ ),缺毛瑞香阴性样品在相应位置无斑点出现,阴性无干扰(图 1);在与地榆对照药材色谱相应的位置上,同样显相同颜色的荧光斑点( $R_f=0.45$ ),缺地榆阴性样品在相应位置无斑点出现,阴性无干扰(图 2)。

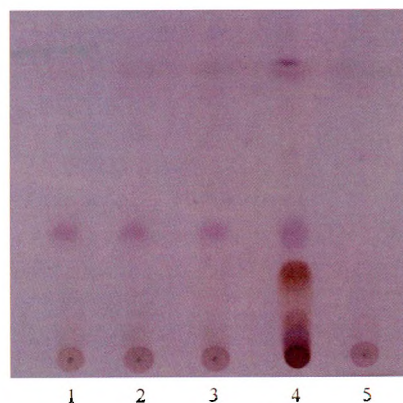


1,2,3:样品(批号 130401,130402,130403);4:毛瑞香对照药材(批号 080405);5:缺毛瑞香阴性对照。

1,2,3:Sample(batch number :130401,130402,130403);  
4:Reference medicinal material of *Daphnes atrocaulis* Herba (batch number:080405);5:Negative sample without *Daphnes atrocaulis* Herba.

图 1 毛瑞香薄层鉴别色谱

Fig. 1 TLC distinction chromatogram of *Daphnes atrocaulis* Herba



1,2,3:样品(批号 130401,130402,130403);4:地榆对照药材(批号 121286-200402);5:缺地榆阴性对照。

1,2,3:Sample(batch number:130401,130402,130403);  
4:Reference medicinal material of garden burnet(batch number:121286-200402);5:Negative sample without garden burnet.

图 2 地榆薄层鉴别色谱

Fig. 2 TLC distinction chromatogram of garden burnet

### 2.2 含量测定

专属性试验结果显示,缺四方藤阴性对照溶液在岩白菜素色谱峰处无干扰峰出现,即该对照溶液对被测成分无干扰;而瑶药瑞香通养助孕胶囊样品在岩白菜素色谱峰处有干扰峰出现(图 3),表明瑶药瑞香通养助孕胶囊样品中的岩白菜素来源于四方藤药材。

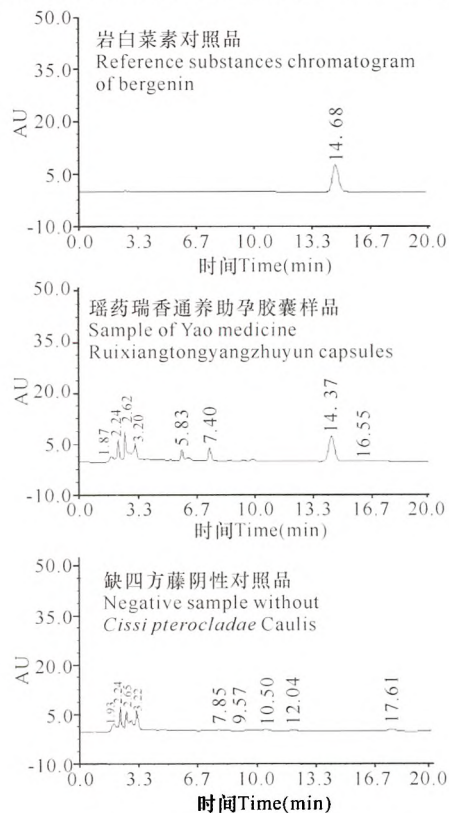


图 3 岩白菜素 HPLC 鉴别色谱

Fig. 3 HPLC distinction chromatogram of bergenin

经线性回归分析得到岩白菜素对照品的标准曲线,其线性回归方程为  $A = 5893.1C + 333.72$ ,  $r =$

0.9998,表明岩白菜素进样浓度在 10.5~168.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内线性关系良好,符合线性回归的要求;测得供试品 RSD 为 0.72%,岩白菜素含量为 1.28 mg/粒,  $\text{RSD}=1.76\%$  ( $n=6$ ),表明本研究方法精密度高,重现性良好。采用该方法测得供试品中岩白菜素含量的 RSD 为 0.66%,表明供试品溶液在 16 h 内保持稳定。

通过加样回收率试验,得到本研究方法的平均回收率为 98.9%,RSD 为 1.23% ( $n=6$ ),表明本研究方法回收率良好,符合含量测定方法学研究的要求(表 1)。采用该方法对 6 个批号的样品中岩白菜素的含量进行测定,得到岩白菜素含量分别为 1.42 mg/粒,1.38 mg/粒,1.30 mg/粒,1.30 mg/粒,1.28 mg/粒,1.24 mg/粒。

表 1 加样回收试验

Table 1 Experiments of recovery

序号 No.	样品含量 Sample contents( $\mu\text{g}$ )	测得量 Measured amount( $\mu\text{g}$ )	回收率 Recovery rate(%)
1	367.3	739.1	98.4
2	362.2	743.9	101.0
3	365.8	741.2	99.3
4	363.6	735.3	98.3
5	361.8	736.0	99.0
6	370.5	738.5	97.4
平均值 Average	—	—	98.9

### 3 结论

本研究建立的薄层色谱法能检识瑶药瑞香通养

助孕胶囊中毛瑞香及地榆药材,建立的 HPLC 法能测定本品中岩白菜素的含量,且该方法分离效果较佳,重现性好,为制定瑞香通养助孕胶囊质量标准奠定了实验基础。

#### 参考文献:

- [1] 潘保强. 四方藤化学成分研究[J]. 中草药,1981,12(6):45.  
Pan B Q. Studies on the chemical constituents of *Cissis pterocladae* Caulis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,1981,12(6):45.
- [2] 贾靛,闵知大. 毛瑞香化学成分的研究[J]. 中草药,2005,36(9):1311-1312.  
Jia L, Min Z D. Studies on the chemical constituents in roots of *Daphne odora* var. *atrocaulis*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2005,36(9):1311-1312.
- [3] 袁振海,孙立立. 地榆现代研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(3):90-92.  
Yuan Z H, Sun L L. Modern research progress of Garden Burnet[J]. Chinese Journal of Information on TCM, 2007,14(3):90-92.
- [4] 刘元,宋志钊,文志云. HPLC 法测定翼茎白粉藤中岩白菜素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,14:79-80.  
Liu Y, Song Z Z, Wen Z Y. Determination of bergenin in *Cissus pteroclada* Hayata by HPLC[J]. China Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 14: 79-80.

(责任编辑:陆 雁)