

# 天麻蜜制片的质量标准研究<sup>△</sup>

左爱萍<sup>1\*</sup>, 王传方<sup>2</sup>, 潘梅<sup>1</sup>, 唐靖雯<sup>1#</sup>, 张丽艳<sup>3</sup>, 吴浩<sup>2</sup>, 龚建平<sup>4</sup>(1. 贵州威门药业股份有限公司, 贵阳 550018; 2. 贵州同威生物科技有限公司, 贵州毕节 551600; 3. 贵阳中医学院药学院, 贵阳 550002; 4. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4703-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.33

**摘要** 目的: 建立天麻蜜制片的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中天麻素和对羟基苯甲醇进行鉴别; 测定制剂中水分、灰分和浸出物含量; 采用高效液相色谱法测定制剂中天麻素和羟基苯甲醇含量。色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-0.05%磷酸(3:97, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 220 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 10 μl。结果: 天麻素和对羟基苯甲醇的 TLC 图斑点清晰, 分离度好。制剂水分 < 35.0%, 总灰分 < 2.0%, 浸出物 > 40.0%。天麻素、羟基苯甲醇检测质量浓度线性范围分别为 25.2~126.0、12.7~63.5 μg/ml (*r* 均为 0.999 9); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 2.0%; 加样回收率分别为 99.49%~102.40%、98.75%~102.63%, RSD 分别为 1.09%、1.53%。结论: 该方法操作简便、重复性好, 可用于天麻蜜制片的质量控制。

**关键词** 天麻蜜制片; 质量标准; 高效液相色谱法; 天麻素; 羟基苯甲醇

## Study on the Quality Standards for *Gastrodia elata* Honey-fired Tablet

ZUO Ai-ping<sup>1</sup>, WANG Chuan-fang<sup>2</sup>, PAN Mei<sup>1</sup>, TANG Jing-wen<sup>1</sup>, ZHANG Li-yan<sup>3</sup>, WU Hao<sup>2</sup>, GONG Jian-ping<sup>4</sup>(1. Guizhou Warmen Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550018, China; 2. Guizhou Tongwei Biotechnology Co., Ltd., Guizhou Bijie 551600, China; 3. Dept. of Pharmacy, Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, China; 4. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Gastrodia elata* honey-fired tablet. METHODS: TLC was used to identify the gastrodin and benzyl alcohol and determine the content of moisture, ash and extract; HPLC was used to determine the content of gastrodin and benzyl alcohol. Column was Diamonsil C<sub>18</sub> with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphate (3:97, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 220 nm, column temperature was 25 ℃ and volume injection was 10 μl. RESULTS: The TLC of gastrodin and benzyl alcohol showed clear spots and good separation. The moisture content < 35.0%, total ash contents < 2.0% and extract content > 40.0%. Linear range of gastrodin was 25.2-126.0, 12.7-63.5 μg/ml (*r* = 0.999 9), respectively; RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 2.0%; recovery was 99.49%-102.40% (RSD = 1.09%, *n* = 6), 98.75%-102.63% (RSD = 1.53, *n* = 6), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple and good reproducibility, and can be used for the quality control of *Gastrodia elata* honey-fired tablet.

**KEYWORDS** *Gastrodia elata* honey-fired tablet; Quality standard; HPLC; Gastrodin; Benzyl alcohol

天麻是古今医家常用的名贵中药<sup>[1]</sup>, 具有息风止痉、平抑肝阳, 祛风通络之功效。天麻蜜制片是由天麻中的佳品贵州鲜天麻精制而成的饮片。将鲜天麻切片加以蜂蜜炙<sup>[2-4]</sup>, 作用有三: 其一, 起协同作用, 增强天麻的滋阴补血、益气固精、安神定志等补益作用; 其二, 起矫味作用, 赋予天麻良好的适口性, 便于直接服用; 其三, 可保存天麻中的各种有效成分, 充分发挥天麻的药效作用。笔者通过考察天麻蜜制片的薄层色

谱(TLC)鉴别、水分、灰分、浸出物, 以及天麻素和对羟基苯甲醇的含量, 初步建立了天麻蜜制片的质量标准。

## 1 材料

### 1.1 仪器

2695 型高效液相色谱(HPLC)仪, 包括二级管阵列检测器(美国 Waters 公司); KQ-250DB 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); AMW2200 型十万分之一电子天平(日本岛津

试学报, 2013, 32(1): 122.

△ 基金项目: 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合 SY 字[2014]3019 号)

\* 副主任药师。研究方向: 中药质量管理及质量标准。电话: 0851-86312625。E-mail: wmgzb@163.com

# 通信作者: 高级工程师。研究方向: 中药新药、保健食品研发及质量控制。电话: 0851-86312620。E-mail: cyun819@163.com

[9] 朱继孝, 罗光明, 陈岩, 等. 栀子质量的化学模式识别研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11): 2 628.

[10] 游剑, 邓青云, 高丽, 等. 不同工艺对栀子苷提取效果的比较研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(1): 220.

(收稿日期: 2015-02-04 修回日期: 2015-08-12)

(编辑: 刘柳)

公司);pH酸度计(德国 Sartorius 公司);SHB-IV 型循环水式真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

## 1.2 药品与试剂

天麻蜜制片(贵州同威生物科技有限公司,批号:20150101、20150102、20150103);天麻对照药材(批号:120944-201009)、天麻素对照品(批号:110807-201306,纯度:96.8%)均购自中国食品药品检定研究院;对羟基苯甲醇对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:20140302,纯度:98%);蜂蜜(贵州夜郎蜂业科技有限公司,批号:20150505);硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果<sup>[5-9]</sup>

### 2.1 定性鉴别

2.1.1 天麻素 取样品 80 °C 下烘干,粉碎成粉末,精密称取 0.5 g,加 70% 甲醇 5 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理 30 min,滤过,取滤液,作为供试品溶液。另取天麻对照药材 0.5 g,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。再取天麻素对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的对照品溶液。按 TLC 法(2010 版《中国药典》(一部)附录 VI B)试验,吸取上述溶液各 5  $\mu$ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(9:1:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,详见图 1A。

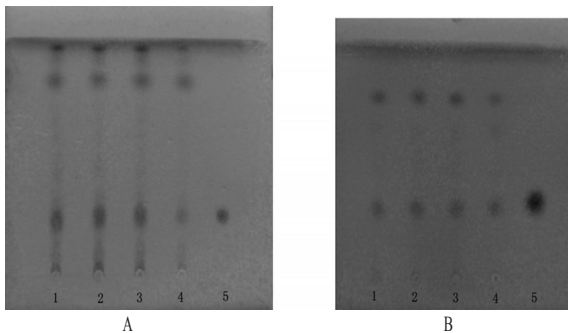


图1 薄层色谱图

A. 天麻素;B. 对羟基苯甲醇;1~3. 供试品(批号:20150101、20150102、20150103);4. 对照药材;5. 对照品

Fig 1 TLC chromatograms

A. gastrodin; B. benzyl alcohol; 1-3. test sample (batch number: 2015010, 20150102, 20150103); 4. reference crude herbs; 5. reference substance

2.1.2 对羟基苯甲醇 按“2.1.1”项下方法制成供试品溶液和对照药材溶液。另取对羟基苯甲醇对照品适量,加乙醇制成每 1 ml 含 1 mg 的对照品溶液。按 TLC 法(2010 版《中国药典》(一部)附录 VI B)试验,吸取上述供试品溶液 10  $\mu$ l,对照药材溶液和对照品溶液各 5  $\mu$ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 °C)-乙酸乙酯(1:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,详见图 1B。

### 2.2 检查项目

2.2.1 水分 参照 2010 年版《中国药典》(一部)附录 IX H 水分

测定法第一法,将样品切碎至直径 < 3 mm 的碎末,称取碎末 2 g,精密称定,按规定方法测定,测得 3 批样品水分含量均 < 35.0%,结果见表 1。建议天麻蜜制片的水分不得超过 40.0%。

表 1 样品水分、总灰分、浸出物含量测定结果

Tab 1 Determination results of moisture, total ash and extract content of samples

批号	水分, %	总灰分, %	浸出物含量, %
20150101	32.43	1.75	42.97
20150102	34.90	1.81	41.00
20150103	34.76	1.78	43.11

2.2.2 总灰分 参照 2010 年版《中国药典》(一部)附录 IX K 灰分测定法,取“2.1.1”项下烘干样品粉末 2~4 g,按规定方法测定,测得 3 批样品总灰分均 < 2.0%。建议天麻蜜制片的总灰分不得超过 4.5%,结果见表 1。

2.2.3 浸出物含量 参照 2010 年版《中国药典》(一部)XA 浸出物测定法,取“2.1.1”项下烘干样品粉末 2~4 g,以 75% 乙醇为浸出溶剂,按规定方法测定,测得 3 批样品浸出物含量均 > 40.0%,结果见表 1。建议天麻蜜制片的浸出物含量不得少于 40.0%。

### 2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸(3:97, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10  $\mu$ l。在上述色谱条件下进样测定,记录色谱图,理论板数均大于 5 000,分离度均大于 2,各成分基线分离良好,详见图 1。

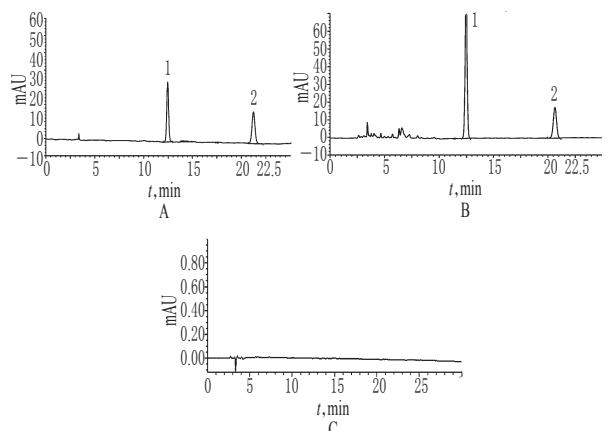


图2 高效液相色谱图

A. 混合对照品; B. 供试品; C. 蜜空白对照; 1. 天麻素; 2. 对羟基苯甲醇

Fig 2 HPLC chromatograms

A. mixed reference substance; B. test sample; C. honey blank control; 1. gastrodin; 2. benzyl alcohol

2.3.2 混合对照品溶液的制备 取天麻素和对羟基苯甲醇对照品各适量,分别精密称定,加乙腈-水溶液(3:97, V/V, 下同)制成每 1 ml 含天麻素 50  $\mu$ g、对羟基苯甲醇 25  $\mu$ g 的混合对照品溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取“2.1.1”项下烘干样品粉末约 2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入乙醇 50 ml,称定质量,超声(功率:120 W,频率:40 kHz)处理 30 min,放冷,再称定质量,用乙醇补足减失的质量,滤过;精密量取滤液 10 ml,浓缩至近干无醇味,残渣加乙腈-水溶液溶解,置于 25 ml 量瓶

中,用乙腈-水溶液定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 空白对照溶液的制备 取蜂蜜少许(<1 g),置于100 ml量瓶中,摇匀,即得。

2.3.5 线性关系考察 分别精密称取天麻素对照品10.08 mg、对羟基苯甲醇对照品10.12 mg,分别置于10 ml量瓶中,加乙腈-水溶液溶解并定容,摇匀,即得天麻素、对羟基苯甲醇质量浓度分别为0.100 8、10.12 mg/ml的单一对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液各10、5 ml,置同一20 ml棕色量瓶中,加乙腈-水溶液定容,摇匀,即得每1 ml含天麻素0.504 μg、对羟基苯甲醇0.253 μg的混合对照品溶液。精密量取上述混合对照品贮备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,分别置于20 ml量瓶中,用乙腈-水溶液定容,制成系列对照品贮备液。精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得天麻素回归方程为 $y=8.554 1x+1.361 8$ ( $r=0.999 9, n=5$ ),对羟基苯甲醇回归方程为 $y=15.687x+2.817 5$ ( $r=0.999 9, n=5$ )。结果表明,天麻素、羟基苯甲醇检测质量浓度线性范围分别为25.2~126.0、12.7~63.5 μg/ml。

2.3.6 精密度试验 取“2.3.2”项下混合对照品溶液适量,连续进样6次,记录峰面积。结果,天麻素、羟基苯甲醇峰面积的RSD分别为0.37%、0.32%( $n=6$ ),表明仪器精密度高。

2.3.7 稳定性试验 取“2.3.3”项下供试品溶液(批号:20140501)适量,分别于放置0、2、4、8、16、24 h时进样测定,记录峰面积。结果,天麻素、羟基苯甲醇面积的RSD分别为0.83%、1.51%( $n=6$ ),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.3.8 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20140501),干燥后制成粉末(过3号筛),精密称定2 g,共6份,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,天麻素、羟基苯甲醇峰面积的RSD分别为1.03%、1.35%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 取已含量的样品(批号:20140501)适量,共6份,分别精密加入天麻素、对羟基苯甲醇对照品2.30、0.60 mg,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery tests( $n=6$ )

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
天麻素	1.00	2.02	2.30	4.31	99.50	100.65	1.09
	1.00	2.08	2.30	4.43	102.40		
	1.00	1.98	2.30	4.3	101.01		
	1.00	1.96	2.30	4.25	99.49		
	1.00	2.03	2.30	4.34	100.49		
	1.00	2.01	2.30	4.33	101.00		
对羟基苯甲醇	1.00	0.81	0.60	1.42	101.23	100.65	1.53
	1.00	0.78	0.60	1.39	101.28		
	1.00	0.84	0.60	1.43	98.81		
	1.00	0.76	0.60	1.38	102.63		
	1.00	0.83	0.60	1.44	101.20		
	1.00	0.8	0.60	1.39	98.75		

2.3.10 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.3.3”项

下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算样品的质量分数,结果见表3。

表3 样品含量测定结果

Tab 3 Results of contents determination of samples

批号	天麻素和对羟基苯甲醇总量, %
20150101	0.33
20150102	0.30
20150103	0.29

由表2可知,3批天麻蜜制片中天麻素和对羟基苯甲醇总质量分数为0.29~0.33%,平均为0.30%。建议天麻素和对羟基苯甲醇总质量分数不得少于0.25%

### 3 讨论

根据不同批次天麻蜜制片试验测定结果,暂定天麻蜜制片水分不得超过40.0%,灰分不得超过4.5%,浸出物含量不得低于40.0%,天麻素和对羟基苯甲醇总质量分数不得少于0.25%。

在定性鉴别过程中,分别进行了天麻素和对羟基苯甲醇TLC鉴别,与2010版《中国药典》(一部)仅对天麻素进行定性鉴别的方法比较,文中鉴别方法可更好地控制制剂质量。而天麻素和对羟基苯甲醇极性相差不大,可在同一薄层板上显示,但考虑2015版《中国药典》(一部)TLC鉴定中,两者是分开鉴定,故笔者亦将两者分开鉴定。

本品含量测定采用天麻素和对羟基苯甲醇总质量分数主要有两方面原因:其一,在分子结构上讲,天麻素较对羟基苯甲醇多了一个β-D-吡喃葡萄糖,而此结构在不同环境下极易脱落,从而形成对羟基苯甲醇,所以为更准确地对天麻素进行质量控制,应计算二者总质量分数;其二,在2015版《中国药典》(一部)也将二者总质量分数作为含量测定指标。

综上所述,该方法操作简便、重复性好,可用于天麻蜜制片的质量控制。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:54.
- [2] 曹丽,孙虹,李展,等.不同品种的升麻蜜制前后药理活性的比较[J].中药材,2007,30(12):1 561.
- [3] 熊鹏辉.蜂蜜在中药炮制及制剂中的应用[J].时珍国医国药,2005,16(1):35.
- [4] 张泰,王学美.中药蜜制法沿革述要[J].环球中医药,2009,2(3):220.
- [5] 邓英君,庄果,汪兰云,等.醋狼毒饮片质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(23):98.
- [6] 张莹,毛春芹,陆兔林,等.醋五味子饮片质量标准研究[J].中成药,2012,34(12):2 399.
- [7] 季德,毛春芹,余玖霞,等.醋紫石英饮片质量标准研究[J].中药材,2014,37(11):1 973.
- [8] 刘静,刘向国,李国强,等.冬瓜子饮片质量标准研究[J].中药材,2012,35(12):1 939.
- [9] 杨建冬,邓茂芝.地稔药材的质量标准研究[J].中国药房,2015,26(6):818.

(收稿日期:2015-05-15 修回日期:2015-07-20)

(编辑:张静)