

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.12.018

舒肝益脾颗粒质量标准研究*

颜瑞琪, 栗建明[△], 顾利红, 侯惠婵, 袁震霆

(广州市药品检验所·国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 广东 广州 510160)

摘要:目的 建立舒肝益脾颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对舒肝益脾颗粒中的茵陈进行定性鉴别;采用高效液相色谱法同时测定五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素含量,色谱柱为 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 217 nm,柱温为 30 ℃。结果 茵陈的薄层色谱图斑点清晰,专属性强。五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素进样量分别在 12.7~2 506.5 ng, 7.8~1 252.2 ng, 10.6~1 688.9 ng 范围内与峰面积线性关系良好,精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0%,平均加样回收率无蔗糖型分别为 99.68%, 99.96%, 100.73%,含蔗糖型分别为 98.09%, 100.62%, 100.60%, RSD 无蔗糖型分别为 0.85%, 1.06%, 0.85% (n=6),含蔗糖型分别为 0.43%, 0.73%, 0.50% (n=6)。结论 该研究中建立的方法操作简便、稳定可靠,可用于舒肝益脾颗粒质量标准的建立及质量控制。

关键词:舒肝益脾颗粒;茵陈;五味子醇甲;五味子甲素;五味子乙素;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)12-0067-04

Quality Standard of Shuganyipi Granules

YAN Ruiqi, LI Jianming, GU Lihong, HOU Huichan, YUAN Zhenting

(Guangzhou Institute for Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China 510160)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Shuganyipi Granules. Methods Thin-layer chromatography (TLC) method was used for the qualitative identification of *Artemisia scoparia* in Shuganyipi Granules. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for simultaneous determination of schisandrol, schisandrin A and schisandrin B in Shuganyipi Granules, the chromatographic column was Thermo Hypersil GOLD C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 217 nm and the column temperature was 30 ℃. Results TLC spots of *Artemisia scoparia* were clear and specific. The linear ranges of schisandrol, schisandrin A and schisandrin B were 12.7-2 506.5 ng, 7.8-1 252.2 ng and 10.6-1 688.9 ng, respectively. RSDs of precision, stability and repeatability test were less than 2.0%. The average recoveries of schisandrol, schisandrin A and schisandrin B were 99.68%, 99.96%, 100.73% (sucrose-free) and 98.09%, 100.62%, 100.60% (sucrose-containing) with RSDs of 0.85%, 1.06%, 0.85% (sucrose-free, n=6) and 0.43%, 0.73%, 0.50% (sucrose-containing, n=6), respectively. Conclusion The method were simple, stable and reliable, which can be used for the quality control of Shuganyipi Granules.

Key words: Shuganyipi Granule; *Artemisia scoparia*; schisandrol; schisandrin A; schisandrin B; quality standard; TLC; HPLC

舒肝益脾颗粒由茵陈、蒲公英、五味子、黄芪、茯苓、山楂组方,具有清化湿热、舒肝利胆、解毒退黄、健脾和胃功效^[1],为肝胆类疾病临床常用药。茵陈为方中君药;五味子中含有木脂素类(五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素等)、挥发油类和三萜类等活性成分,具有保肝护肝、镇静催眠、抗氧化、增强

免疫力等药理作用^[2-7]。目前,该品种有6家企业拥有批准文号,各企业执行的质量标准均不一致,生产工艺参数、检验项目、含量测定指标和限度均有较大差异,包括含蔗糖型和无蔗糖型。由于已有标准中薄层色谱(TLC)鉴别缺乏对茵陈的质量控制,五味子含量测定仅以单一成分为控制指标,质量标准不完善,不能有效控

*基金项目:国家药典委员会药品标准制修订研究课题[2019Z073]。

第一作者:颜瑞琪,男,硕士,主管中药师,研究方向为药品质量标准,(电子信箱)415939506@qq.com。

[△]通信作者:栗建明,男,硕士,主任中药师,研究方向为药品质量标准,(电子信箱)longyangli2002@163.com。

- 进展[J]. 海峡药学,2018,30(5):32-35.
- [7] 张静,周浓,祁俊生,等. HPLC同时测定不同产地延胡索中的6种生物碱[J]. 华西药学杂志,2016,31(4):415-419.
- [8] 许佳楠,邓剑壕,冯豆,等. 中药固体制剂均匀性问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(4):228-234.
- [9] 马月光,岳显可,曹岗,等. 不同产地延胡索饮片炮制前后有效成分含量的测定[J]. 中药材,2013,36(11):1754-1758.
- [10] 严倩茹,郭伟魁. 中药制剂含量均匀度研究[J]. 药学研究,2018,37(9):540-545.
- [11] 韩丽,张芳,张定堃,等. 中药制剂含量均匀度的测定方法初探[J]. 中草药,2014,45(15):2125-2131.
- [12] 郭丁,马逾英,吕强,等. 不同产地白芷中欧前胡素含量及HPLC指纹图谱的对比研究[J]. 中药材,2010,33(1):22-25.

(收稿日期:2020-09-08;修回日期:2021-03-19)

制该品种的质量。近年来,多指标含量测定已广泛应用于中药材、中成药的质量控制^[4,8-17]。本课题中采用TLC法对茵陈进行定性鉴别,并采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定舒肝益脾颗粒中五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素的含量,建立完善的质量标准,为该制剂的深层次开发和质量控制提供可行性方案。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20A型高效液相色谱仪,包括SIL-20AC自动进样器、CTO-20A柱温箱、SPD-M20A检测器和LabSolutions色谱工作站(日本Shimadzu公司);XP26型和XS204型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);硅胶G60薄层预制板(德国Merck公司);Elmasonic P300H型超声仪(德国Elma公司)。

1.2 试剂

茵陈对照药材(批号为120950-201608),五味子醇甲对照品(批号为110857-201815,含量为99.7%),五味子甲素对照品(批号为110764-201714,含量为99.3%),五味子乙素对照品(批号为110765-201512,含量为99.0%),均购自中国食品药品检定研究院;舒肝益脾颗粒(M1公司,批号为S1及S2;M2公司,批号为S3-S7;M3公司,批号为S8-S12);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

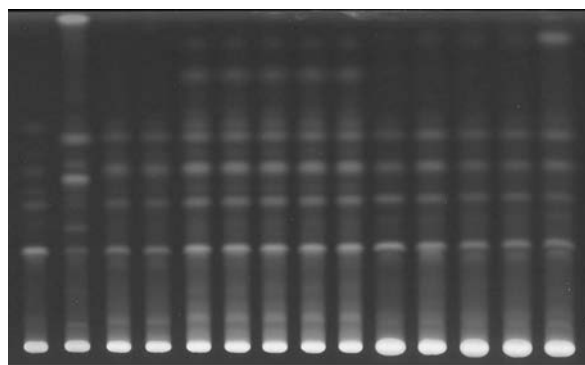
2.1 茵陈 TLC 鉴别

取样品10 g(含蔗糖型)或2 g(无蔗糖型),研细,加甲醇30 mL,超声(功率为380 W,频率为37 kHz,下同)处理30 min,滤过,滤液浓缩至5 mL,即得供试品溶液。另取茵陈对照药材1.5 g,加水30 mL,煎煮60 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇30 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,即得对照药材溶液。另取缺茵陈的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2015年版《中国药典(四部)》(通则0502)TLC法试验,在温度为20℃、相对湿度为58%条件下吸取上述供试品溶液2~4 μL及对照药材溶液、阴性对照品溶液各2 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-丙酮(5:3:2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置365 nm紫外光灯下检视。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蓝色的荧光主斑点。阴性对照无干扰。详见图1。

2.2 五味子含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil GOLD C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~15 min时56% A,15~25 min时56%→75% A,25~44 min时75% A);流速:1.0 mL/min;检测



1. 阴性对照品溶液 2. 对照药材溶液 3-14. 供试品溶液
(批号分别为S1-S12)

图1 薄层色谱图

1. Negative reference solution 2. Reference medicinal materials solution
3-14. Test solution(batch number:S1-S12)

Fig. 1 TLC chromatograms

波长:217 nm;柱温:30℃。

2.2.2 溶液制备

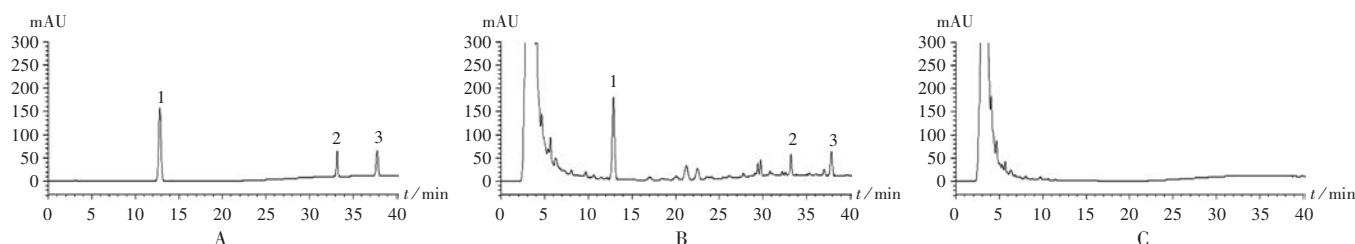
取3种对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含五味子醇甲50 μg、五味子甲素10 μg、五味子乙素15 μg的混合对照品溶液。取装量差异项下供试品,研细,取约5.0 g(含蔗糖型)或1.0 g(无蔗糖型),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,超声处理30 min,取出,放冷,再称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过;精密量取续滤液25 mL,蒸至近干,残渣加甲醇使溶解,并移至5 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得供试品溶液。取缺五味子的阴性样品(企业提供),按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:精密吸取2.2.2项下3种溶液各适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置有吸收峰,阴性对照无干扰。理论板数按五味子醇甲峰计应不低于3 000,分离度大于1.5,基线分离良好。详见图2。

线性关系考察:取3种对照品适量,精密称定,加甲醇,制成五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素质量浓度分别为0.250 6,0.125 2,0.168 9 mg/mL的混合对照品贮备液,稀释成不同质量浓度的系列混合对照品溶液,注入高效液相色谱仪,依法测定。以各成分峰面积为纵坐标(Y)、进样量为横坐标(X,ng)进行线性回归,回归方程及线性范围见表1。

精密度试验:取已知质量浓度(五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素质量浓度分别为49.790,9.985,14.964 μg/mL)的对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的RSD分别为0.03%,0.09%,



1. 五味子醇甲 2. 五味子甲素 3. 五味子乙素
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. schisandrol 2. schisandrin A 3. schisandrin B
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

表1 线性关系考察结果($n=10$)

Tab. 1 Results of linear relation test($n=10$)

成分	线性方程	R	线性范围(ng)
五味子醇甲	$Y_1 = 58\,508\,263.27 X_1 + 28\,267.80$	0.999 9	12.7 ~ 2 506.5
五味子甲素	$Y_2 = 62\,604\,470.91 X_2 + 17\,958.76$	0.999 9	7.8 ~ 1 252.2
五味子乙素	$Y_3 = 61\,782\,724.16 X_3 + 13\,120.51$	0.999 9	10.6 ~ 1 688.9

0.08% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品 1.0 g(无蔗糖型,批号为 S7)或 5.0 g(含蔗糖型,批号为 S12),依法制备供试品溶液,分别在室温下放置 0,4,8,16,24,30,36 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素峰面积的 RSD 均小于 1.00% ($n=7$),表明供试品溶液在室温下 36 h 内稳定。

重复性试验:取样品 1.0 g(无蔗糖型,批号为 S7)或 5.0 g(含蔗糖型,批号为 S12),依法平行制备供试品溶液各 6 份,再按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果无蔗糖型样品中五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素含量分别为 0.564 3, 0.090 7, 0.141 4 mg/g, RSD 分别为 1.40%, 1.40%, 1.50% ($n=6$);含蔗糖型样品中五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素含量分别为 0.127 9, 0.061 6, 0.087 8 mg/g, RSD 分别为 0.67%, 1.51%, 1.48% ($n=6$)。表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品约 0.5 g(无蔗糖型)和 2.5 g(含蔗糖型),各 6 份,精密称定,分别精密加入混合对照品溶液 50 mL,依法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果见表 2。

表2 加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 2 Results of the recovery test($n=6$)

成分	样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
	无蔗糖型	含蔗糖型	无蔗糖型	含蔗糖型	无蔗糖型	含蔗糖型	无蔗糖型	含蔗糖型	无蔗糖型	含蔗糖型	无蔗糖型	含蔗糖型
五味子醇甲	0.282 8	0.320 7	0.283 4	0.320 8	0.566 9	0.635 6	100.25	98.16	99.68	98.09	0.85	0.43
	0.282 7	0.320 1	0.283 4	0.320 8	0.567 4	0.635 1	100.46	98.19				
	0.283 1	0.320 0	0.283 4	0.320 8	0.563 7	0.632 6	99.01	97.44				
	0.283 2	0.320 1	0.283 4	0.320 8	0.567 5	0.633 7	100.32	97.76				
	0.283 9	0.319 9	0.283 4	0.320 8	0.566 4	0.635 4	99.68	98.35				
	0.286 5	0.320 0	0.283 4	0.320 8	0.565 2	0.636 4	98.34	98.63				
五味子甲素	0.045 4	0.154 4	0.045 6	0.163 1	0.091 4	0.316 6	100.88	99.45	99.96	100.62	1.06	0.73
	0.045 4	0.154 2	0.045 6	0.163 1	0.091 4	0.318 4	100.88	100.67				
	0.045 5	0.154 1	0.045 6	0.163 1	0.090 7	0.318 0	99.12	100.49				
	0.045 5	0.154 2	0.045 6	0.163 1	0.091 5	0.317 9	100.88	100.37				
	0.045 6	0.154 1	0.045 6	0.163 1	0.091 0	0.319 1	99.56	101.16				
	0.046 0	0.154 1	0.045 6	0.163 1	0.090 9	0.319 8	98.46	101.59				
五味子乙素	0.070 9	0.220 1	0.071 0	0.234 5	0.142 9	0.455 9	101.41	100.55	100.73	100.60	0.85	0.50
	0.070 8	0.219 7	0.071 0	0.234 5	0.142 7	0.454 6	101.27	100.17				
	0.070 9	0.219 6	0.071 0	0.234 5	0.142 0	0.455 6	100.14	100.64				
	0.071 0	0.219 7	0.071 0	0.234 5	0.143 0	0.454 1	101.41	99.96				
	0.071 1	0.219 6	0.071 0	0.234 5	0.142 7	0.456 8	100.85	101.15				
	0.071 8	0.219 7	0.071 0	0.234 5	0.142 3	0.457 0	99.30	101.19				

2.2.4 样品含量测定

取12批样品,每批取1袋,依法制备供试品溶液,进样测定,以外标法计算含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果(mg/袋, $n=2$)

Tab. 3 Content determination of schisandrol, schisandrin A and schisandrin B in the samples(mg/bag, $n=2$)

批号	五味子醇甲	五味子甲素	五味子乙素	批号	五味子醇甲	五味子甲素	五味子乙素
S1	0.28	0.02	0.03	S7	1.11	0.18	0.28
S2	0.28	0.02	0.03	S8	0.27	0.41	0.76
S3	1.22	0.22	0.36	S9	0.32	0.52	0.91
S4	1.08	0.19	0.33	S10	0.34	0.48	0.97
S5	1.06	0.19	0.32	S11	1.67	0.66	0.95
S6	1.22	0.20	0.35	S12	1.21	0.64	0.91

3 讨论

茵陈为舒肝益脾颗粒方中君药,但目前各企业现行标准中均无该药材的鉴别项目,2015年版《中国药典(一部)》中所载茵陈分为绵茵陈和花茵陈。前期调研结果显示,生产企业均使用绵茵陈投料。参考生产工艺,对照药材采取水煮后醇提的处理方法,尽量保持与生产过程一致。同时,还考察了不同厂家的薄层色谱板(青岛海洋硅胶G板、山东烟台硅胶G板和默克硅胶G₆₀板),不同温度(5, 20, 30℃),不同相对湿度(32%, 58%, 88%)对结果的影响。结果显示,在色谱板、温度、相对湿度发生一定变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

预试验中分别考察了提取方法(超声提取、回流提取),提取溶剂(体积分数为100%、75%、50%的甲醇和三氯甲烷),提取时间(30, 45, 60 min)对3种木脂素类成分提取率的影响。结果显示,以甲醇超声提取30 min的效率较高,且提取时间适宜,故最终选择此方法制备供试品溶液。

2015年版《中国药典(一部)》五味子含量测定项下检测波长为250 nm,故本试验中采用二极管阵列检测器,在190~400 nm波长范围进行扫描,结果显示,3种对照品在217 nm和250 nm波长处均有最大吸收,但五味子甲素、五味子乙素在250 nm波长处响应值较弱,故最终选定217 nm作为检测波长。

由于现行标准各企业所控制的成分各不相同,所测成品中五味子相应成分含量差异较大。本研究中建立的HPLC法可用于同时测定舒肝益脾颗粒中3种木脂素类成分含量,该方法较现行标准增加了五味子的指标成分数量,有利于对五味子原料质量的全面控制,设立统一的监测指标并评价该品种质量的一致性。

综上所述,本研究中所建立的方法操作简便,准确

度和精密度高,重复性和稳定性好,可用于舒肝益脾颗粒中茵陈的薄层鉴别,以及五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素3种木脂素类成分含量的同时测定,可为舒肝益脾颗粒质量标准的建立提供参考。

参考文献

- [1] WS₃-B-3709-98,中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第十九册)[S].
- [2] 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: 66-67.
- [3] 魏雪苗, 侯建成, 刘洋, 等. 五味子木脂素研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2018, 39(2): 115-118.
- [4] 杨立志, 姜雪敏. 高效液相色谱法测定利肺片中五味子醇甲、五味子甲素及五味子乙素含量[J]. 中国药业, 2017, 26(2): 38-40.
- [5] 关亚会, 贾洪文, 王巍. 五味子木脂素类药理作用的研究[J]. 黑龙江中医药, 2008, 37(6): 44-45.
- [6] 彭苗苗, 方芸. 中药复方药效物质基础研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(7): 659-660.
- [7] 戴云, 叶艳青, 冯伟博, 等. 化学模式识别在中药质量控制中的应用[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2007, 16(4): 334-337.
- [8] 沈晓君, 刘玉翠, 曲晓波, 等. HPLC法同时测定不同产地五味子中4种木脂素类成分的含量[J]. 中国药房, 2017, 28(3): 387-390.
- [9] 吴伦, 苏阳, 范海潮, 等. RP-HPLC法测定北五味子中6种木脂素类成分[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2015, 31(5): 536-539.
- [10] 占永良, 徐盛仙, 程志娟, 等. HPLC同时检测参芪五味子片中5种木脂素类成分含量[J]. 中药材, 2018, 41(5): 1148-1150.
- [11] 肖宇, 林林, 张福明, 等. 利肝隆颗粒中五味子4种木脂素的含量测定[J]. 中国药事, 2016, 30(11): 1117-1122.
- [12] 马健康, 张秀荣, 张宏梅, 等. HPLC法同时测定五味子微球中三种木脂素类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 2220-2221.
- [13] 胡俊扬, 陆兔林, 毛春芹, 等. HPLC法同时测定不同产地五味子中8种木脂素类成分[J]. 中成药, 2012, 34(2): 313-316.
- [14] 刘移兰, 蔡卫华, 窦志华, 等. 一测多评法同时测定五味子中12个木脂素类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(7): 1207-1216.
- [15] 吕情花, 李永华. 高效液相色谱法同时测定利肝隆片中5种成分含量[J]. 中国药业, 2020, 29(17): 83-86.
- [16] 陈萍. “一测多评”法测定护肝片中3种木脂素类成分的含量[J]. 临床合理用药, 2018, 11(2A): 116-117.
- [17] 窦志华, 安莉萍, 罗琳, 等. 指纹图谱与一测多评法相结合测定五味子种子中木脂素类成分[J]. 中药材, 2014, 37(9): 1604-1608.

(收稿日期: 2020-09-11)