

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)11-0067-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.11.014



健脾降脂颗粒质量标准提升研究*

李成森¹, 周春玲¹, 王晓月¹, 童冰妮², 孔令锋¹, 麦志雄^{2△}

(1. 辽宁省检验检测认证中心·辽宁省药品检验检测院, 辽宁 沈阳 110000; 2. 广西梧州制药<集团>股份有限公司, 广西 梧州 543000)

摘要:目的 提升健脾降脂颗粒的质量控制标准。方法 采用高效液相色谱法对党参,以及薄层色谱法对远志、丹参进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定丹参素钠的含量,色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-1%冰醋酸溶液(6:94, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为280 nm,进样量为20 μL。结果 色谱中能明显检出远志、丹参、党参,且阴性对照无干扰,专属性强。丹参素钠质量浓度在0.542~54.200 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好($R^2=0.9999$, $n=6$);精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于2.0%($n=6$);平均加样回收率为101.86%,RSD为1.68%($n=6$)。结论 所建立的方法简便、准确、专属性强,可为健脾降脂颗粒质量标准的提升提供参考。

关键词:健脾降脂颗粒;丹参素钠;党参炔苷;远志;党参;丹参;质量标准

Improvement of Quality Standard of Jianpi Jiangzhi Granules

LI Chengsen¹, ZHOU Chunling¹, WANG Xiaoyue¹, TONG Bingni², KONG Lingfeng¹, MAI Zhixiong²

(1. Liaoning Institute for Drug Control · Liaoning Inspection, Examination & Certification Centre, Shenyang, Liaoning, China 110000; 2. Guangxi Wuzhou Pharmaceutical <Group> Co., Ltd., Wuzhou, Guangxi, China 543000)

Abstract: Objective To improve the quality control standard of Jianpi Jiangzhi Granules. **Methods** The high-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for the qualitative identification of Codonopsis Radix, and the thin-layer chromatography (TLC) method was used for the qualitative identification of Polygalae Radix and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma. The HPLC method was used for the content determination of Sodium Danshensu, the chromatographic column was Diamonsil™ C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-1% glacial acetic acid solution (6:94, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, and the injection volume was 20 μL. **Results** Polygalae Radix, Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma and Codonopsis Radix could be clearly detected in the chromatography, and the negative control has no interference, with strong specificity. The linear range of Sodium Danshensu was 0.542-54.200 μg/mL ($R^2=0.9999$, $n=6$). The RSDs of precision, repeatability, and stability test results were all lower than 2.0% ($n=6$). The average recovery rate of Sodium Danshensu was 101.86% with an RSD of 1.68% ($n=6$). **Conclusion** The established method is simple and accurate with strong specificity, which can provide a reference for improving the quality standard of Jianpi Jiangzhi Granules.

Key words: Jianpi Jiangzhi Granules; Sodium Danshensu; lobetyolin; Polygalae Radix; Codonopsis Radix; Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; quality standard

肥胖可导致高血压、糖尿病、血脂异常^[1-2]等心血管疾病的发病率上升,从而引起多脏器功能损坏,影响

*基金项目:国家药典委员会标准提高项目[2021Z020];广西梧州市科技计划项目[202102016]。

第一作者:李成森,男,硕士,副主任药师,研究方向为中药质量控制及质量标准,(电话)024-31266309(电子信箱)lichengsen@hotmail.com。

△通信作者:麦志雄,男,硕士,高级工程师,研究方向为中药、民族药质量标准建立和质量风险管理,(电话)0774-3922718(电子信箱)137631314@qq.com。

[17] FRENKEL C, TELEM DA, PRYOR AD, et al. The effect of sleeve gastrectomy on extraesophageal reflux disease [J]. Surg Obes Relat Dis, 2016, 12(7):1263-1269.

[18] 余倩盈,姚凯,刘育,等. HPLC法测定富马酸沃诺拉赞原料药中的有关物质[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(4):728-733.

[19] 赵静芝,宿亮,朱婧,等. 超高效液相色谱法测定富马酸沃诺拉赞原料药有关物质[J]. 中国药事, 2022, 36(7):800-809.

[20] 刘杰,孙艳阁,孙继国,等. 富马酸沃诺拉生中基因毒性杂质吡啶-3-磺酸甲酯含量的测定[J]. 山东化工, 2022, 51(12):130-132.

[21] 赵国敏,刘延新,李霞,等. 顶空气相色谱法测定富马酸沃诺拉赞中5种残留溶剂的含量[J]. 中国药师, 2019, 22(5):914-916.

[22] 刘杰,孙艳阁,孙继国,等. 富马酸沃诺拉生原料药中残留溶剂的测定[J]. 山东化工, 2022, 51(11):132-134.

[23] 肖敏,乐志艳. 高效液相色谱法测定富马酸沃诺拉赞的含量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(10):1381-1383.

(收稿日期:2022-08-24;修回日期:2022-12-15)

生活质量^[3]。血脂异常伴有高血压显著增加死亡风险^[4],故调控血脂、有效控制血压和血糖能控制心血管疾病的发生。高脂血症中医属“血瘀”“痰浊”范畴,主要通过抑制外源性脂类和胆酸的吸收,抗氧化、抑制脂类物质的合成,减少脂类物质在血管内皮的沉积而发挥调脂作用^[5-7],传统中药在高脂血症的防治中发挥了重大作用。健脾降脂颗粒由南山楂、泽泻、丹参、党参、灵芝、远志6味中药组方,具有健脾化痰、益气活血功效,主要用于脾运失调、气虚、血瘀引起的高脂血症^[8],症见眩晕耳鸣、胸闷纳呆、心悸气短等。处方以山楂为君药,党参、丹参为臣药,其中党参和胃消食,丹参活血祛瘀,可辅助山楂消食健胃、化痰降脂。丹参主要有效成分为水溶性的酚酸类成分,具有显著改善微循环、抗内皮损伤、抗氧化等药理活性^[9]。健脾降脂颗粒现标准为《国家食品药品监督管理局 国家药品标准》WS₃-013(Z-03)-2001(Z),但缺少对于丹参、远志等药材的专属性鉴别和特征性成分定量测定方法。参考文献^[10-14]和2020年版《中国药典(一部)》,本研究中建立了丹参^{[15]77}、远志^{[15]163}、党参^{[15]293}的定性鉴别方法,以及以丹参素钠为指标成分的样品含量测定方法,为健脾降脂颗粒质量标准的提升提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司),配有G7117C型二极管阵列检测器;AS20500型超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,频率为40 kHz,功率为280 W);CAMAG-reprostar 3照相系统(瑞士Camag公司);Milli-Q型超纯水仪(美国Millipore公司);CP225D型电子天平(精度为十万分之一),CWBSA224S-CW型电子天平(精度为万分之一),均购于德国Sartorius公司。

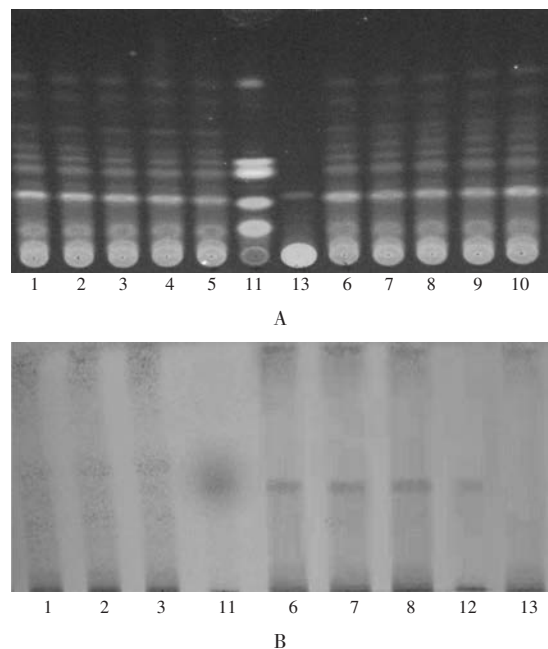
1.2 试剂

远志对照药材(批号为120989-201908),丹参对照药材(批号为121923-201816),党参炔苷对照品(批号为111732-201908,供鉴别用),丹参素钠对照品(批号为110855-201915,纯度为97.8%),均购于中国食品药品检定研究院;薄层色谱板(青岛海洋化工厂,批号为20201012);健脾降脂颗粒(辽宁美大康药业有限公司,批号分别为210301,210302,210303,210304,210305,210401,210402,210403,210404,210405;广西梧州制药<集团>有限公司,批号分别为210801,210802,210803,210804,210805,210806,210807,210808,210809,210810);试验用阴性样品由实验室自制;甲醇(批号为110855-201915),乙腈(批号为110855-201915),均为色谱纯,购于美国天地有限公司。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

远志:取样品10 g,研细,加三氯甲烷50 mL,回流30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。取远志对照药材0.5 g,加水25 mL,加热回流30 min,滤过,取滤液,回收溶剂至干,加三氯甲烷50 mL,回流30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为对照药材溶液。按处方工艺制备不含远志的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。吸取供试品溶液和阴性对照品溶液各20 μL、对照药材溶液10 μL,点于同一硅胶G板,显色剂为石油醚(60~90℃)-丙酮(2:1,V/V),展开,于紫外光灯(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显相同的斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 A。



1-10. 供试品溶液 11-12. 对照药材溶液 13. 阴性对照品溶液(缺远志、缺丹参)

A. 远志 B. 丹参

图1 薄层色谱图

1-10. Test solution 11-12. Reference medicinal solution
13. Negative reference solution (lacking Polygalae Radix and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma)

A. Polygalae Radix B. Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma

Fig.1 TLC chromatograms

丹参:取样品10 g,研细,加水10 mL使溶解,加乙酸乙酯-甲酸(50:0.1,V/V)50 mL,振摇提取,分取乙酸乙酯液,用水洗涤2次,每次10 mL,取乙酸乙酯液,加硅胶G 1 g,摇匀,滤过,滤液置水浴上浓缩至0.5 mL,作为供试品溶液。取丹参对照药材2.5 g,加水30 mL,加热回流30 min,滤过,取滤液,按供试品溶液制备方法制备

对照药材溶液。按处方工艺制备不含丹参的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。吸取供试品溶液、对照药材溶液和阴性对照品溶液各 10 μ L, 点于同一硅胶 G 板, 展开剂为三氯甲烷 - 丙酮 - 甲酸 (10:4:1, V/V/V), 展开, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液。供试品溶液色谱中, 在与对照药材溶液色谱相应位置显相同的斑点, 且阴性对照无干扰。详见图 1 B。

党参: 取样品 20 g, 研细, 加热水 50 mL, 离心, 取上清液 25 mL, 加水饱和的正丁醇振摇提取 2 次, 每次 30 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 25 mL, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 取续滤液, 作为供试品溶液。取党参炔苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 10 μ g 的溶液, 即得对照品溶液。按处方工艺制备不含党参的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。设置色谱条件, 色谱柱为 Agilent TC - C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈 - 水 (20:80, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 210 nm, 进样量为 20 μ L。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相同保留时间处有色谱峰出现, 且阴性对照无干扰。详见图 2。

2.2 丹参素钠含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: DiamonsilTM C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇 - 1% 冰醋酸溶液 (6:94, V/V); 流

速: 1.0 mL/min; 检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μ L。理论板数按丹参素钠峰计应不低于 6 000。

2.2.2 溶液制备

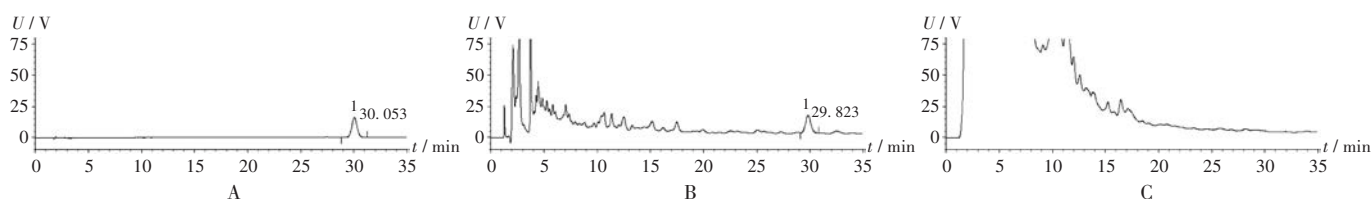
取丹参素钠对照品适量, 精密称定, 加 25% 甲醇制成每 1 mL 含丹参素钠 10 μ g 的溶液, 作为对照品溶液。取装量差异项下的样品, 研细, 取 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 25% 甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 25% 甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。按处方工艺制备不含丹参的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验: 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 20 μ L, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果丹参素钠和供试品溶液中的其他成分均达到基线分离, 且阴性对照无干扰。详见图 3。

线性关系考察: 取丹参素钠对照品适量, 精密称定, 加 25% 甲醇制成质量浓度分别为 0.542, 2.710, 10.840, 27.100, 54.200 μ g/mL 的系列溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 以丹参素钠质量浓度 (X , μ g/mL) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 12.543X + 0.498$ ($R^2 = 0.9999$, $n = 6$)。结果表明, 丹参素钠质量浓度在 0.542 ~ 54.200 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取 2.2.2 项下供试品溶液适量, 按



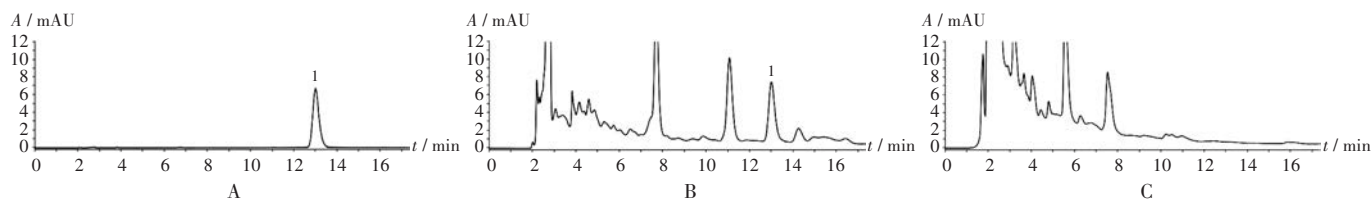
1. 党参炔苷
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 2 党参炔苷定性鉴别高效液相色谱图

1. Lobetyolin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms for the qualitative identification of lobetyolin



1. 丹参素钠
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 3 丹参素钠专属性试验高效液相色谱图

1. Sodium Danshensu

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms of the specificity test of Sodium Danshensu

2.2.1项下色谱条件进样测定6次,记录色谱图。结果丹参素钠峰面积的RSD为0.50%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号210810)适量,精密称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,分别于0,2,4,8,12,24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果丹参素钠峰面积的RSD为1.50%($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号210810)适量,精密称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液6份,按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果丹参素钠的平均含量为0.518 mg/g, RSD为1.37%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号210810)0.25 g,精密称定,共6份,分别精密加入2.2.2项下对照品溶液(质量浓度为0.1084 mg/mL)1 mL,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n=6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
0.2520	0.1310	0.1084	0.2410	102.12		
0.2550	0.1320	0.1084	0.2430	102.56		
0.2518	0.1300	0.1084	0.2380	98.98	101.86	1.68
0.2585	0.1340	0.1084	0.2460	103.13		
0.2514	0.1300	0.1084	0.2420	103.44		
0.2594	0.1340	0.1084	0.2440	100.94		

2.2.4 样品含量测定

取辽宁美大康药业有限公司和广西梧州制药(集团)有限公司生产的样品各10批,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定3次,记录色谱图,并计算含量。结果见表2。

表2 样品中丹参素钠含量测定结果(mg/g, $n=3$)

Tab. 2 Results of the content determination of Sodium

Danshensu in samples (mg/g, $n=3$)

批号	含量	批号	含量
210301	0.748	210801	0.418
210302	0.793	210802	0.462
210303	0.722	210803	0.420
210304	0.775	210804	0.438
210305	0.804	210805	0.419
210401	0.728	210806	0.391
210402	0.770	210807	0.541
210403	0.784	210808	0.497
210404	0.734	210809	0.437
210405	0.717	210810	0.518

3 讨论

曾考察样品中泽泻的薄层色谱鉴别,比较2种供试

品溶液的制备方法,分别出现阴性干扰和对照药材未显斑点的情况,未来尚需进一步研究泽泻的鉴别方法。经查阅相关文献和反复试验均未找出较合适的指标成分以确定方中南山楂的指标性成分槲皮素、山柰酚等黄酮类成分的含量,未来将对南山楂药材进行研究,以期达到控制成药的目的。

曾比较丹参素钠含量测定的超声提取和回流提取2种方法,考察20%~70%甲醇的提取溶剂、15~60 min的提取时间、不同体积的提取溶剂量、色谱柱、流动相等。最终,确定了2.2.1项下色谱条件。

本研究中增加了远志、丹参、党参的定性鉴别和丹参药材中丹参素钠的含量测定方法,建立的方法简便、准确、专属性强,可为健脾降脂颗粒质量标准的提升提供参考。

参考文献

- [1] 徐文超,董惠斌,姚杏娟. 常州市成年居民血脂异常和糖尿病关系研究[J]. 现代预防医学,2018,45(5):912-915.
- [2] 张秋,黄山,钟鑫,等. 广西南宁市壮族成年人心血管疾病危险因素流行与聚集情况分析[J]. 现代预防医学,2020,47(7):1167-1170.
- [3] 刘艳. 健康体检后延续护理干预对“三高”患者生活质量的影响[J]. 中国保健营养,2018,28(17):143.
- [4] STRAIN WD, PALDANIUS PM. Diabetes, cardiovascular disease and the microcirculation[J]. Cardiovascular Diabetology, 2018,17(1):57.
- [5] 巴明玉,娄永强,禄保平. 健脾疏肝降脂方干预非酒精性脂肪肝病肥胖小鼠肝功能、游离脂肪酸机制探讨[J]. 陕西中医,2020,41(4):434-436.
- [6] 林炜基,廖慧丽,刘健红,等. 赵立诚教授运用健脾除痰降脂方治疗高脂血症经验[J]. 上海中医药杂志,2020,54(9):68-72.
- [7] 巴明玉,娄永强,禄保平. 健脾疏肝降脂方对NAFLD肥胖小鼠肝指数、血脂水平及病理组织学的影响[J]. 中医学报,2020,35(8):1723-1726.
- [8] 胡书云,韩冰,王金玲. 中药汤剂在治疗高脂血症中的应用效果评估[J]. 四川中医,2019,37(6):219-221.
- [9] 许红蕾,王庭芳,张川. 丹参素及其衍生物药理作用机制和应用研究进展[J]. 中国现代应用药学,2021,38(2):237-242.
- [10] 刘天竹,李成森,刘博林,等. 高效液相色谱法同时测定寒热痹颗粒中5种成分含量[J]. 中国药业,2021,30(15):78-80.
- [11] 周春玲,刘天竹,李晓欣,等. 超高效液相色谱串联质谱法测定中成药中马兜铃酸I含量[J]. 中国药业,2021,30(16):81-84.
- [12] 丁然然,朱晓东,张丽娟,等. 消渴健脾胶囊质量标准研究[J]. 中国药业,2022,31(3):93-94.
- [13] 刘娟,韩文均,范伟,等. 苁蓉连翘合剂质量标准研究[J]. 中国药业,2022,31(8):80-82.
- [14] 刘学良,韩达斌,陈鹏,等. 清热八味丸质量标准研究[J]. 中国药业,2022,31(16):69-70.
- [15] 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,2020.

(收稿日期:2022-07-27;修回日期:2022-12-10)