

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)22-0085-04  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.22.019



## 扁蕾颗粒质量标准提升研究\*

石春兰, 刘学良, 俞雅琼, 陈鹏, 年永琪, 王永晶, 韩达斌, 刘海青<sup>△</sup>

(青海省药品审评核查中心, 青海 西宁 810007)

**摘要:**目的 提升扁蕾颗粒的现有质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中的当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮的含量,色谱柱为Waters SunFire C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.05%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为254 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μL。结果 1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮的TLC图斑点清晰,分离度高,阴性对照无干扰。当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮质量浓度分别在0.020 5~0.409 6 mg/mL、0.005 6~0.111 6 mg/mL、0.001 5~0.030 0 mg/mL范围内与峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于1.0%;平均加样回收率分别为98.24%、98.11%、97.88%,RSD分别为0.88%、0.93%、1.54%(n=6)。结论 该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于扁蕾颗粒的质量控制。

**关键词:**扁蕾颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮;木犀草素;当药苷

### Improvement of Quality Standard of Bianlei Granules

SHI Chunlan, LIU Xueliang, YU Yaqiong, CHEN Peng, NIAN Yongqi, WANG Yongjing, HAN Dabin, LIU Haiqing

(Qinghai Center for Drug Evaluation and Inspection, Xining, Qinghai, China 810007)

**Abstract: Objective** To improve the existing quality standard of Bianlei Granules. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was used to identify 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone in the preparation qualitatively. The high-performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the contents of sweroside, luteolin and 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone in the preparation; the chromatographic column was Waters SunFire C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.05% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC chromatograms of 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone showed clear spots, high resolution, and no interference from the negative reference. The linear ranges of sweroside, luteolin and 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone were 0.020 5-0.409 6 mg/mL, 0.005 6-0.111 6 mg/mL, 0.001 5-0.030 0 mg/mL respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability were all lower than 1.0%. The average recovery rates of sweroside, luteolin and 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone were 98.24%, 98.11%, 97.88%, with RSDs of 0.88%, 0.93%, 1.54% respectively (n=6). **Conclusion** This method is simple, accurate and repeatable, which can be used for the quality control of Bianlei Granules.

**Key words:** Bianlei Granules; TLC; HPLC; 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone; luteolin; sweroside

扁蕾颗粒是由湿生扁蕾药材经提取制成的单方制剂,有清热燥湿、利湿干黄水功效,临床主要用于治疗小儿腹泻、肠胃炎<sup>[1-5]</sup>。其收载于《卫生部药品标准·蒙药分册》<sup>[6]</sup>,质量标准中仅有性状及制剂通则项下规定的检查项,不能有效控制药品质量。为了更全面地控制扁蕾颗粒质量,本试验中采用薄层色谱(TLC)法对制剂中1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮进行定性鉴别,同时采用高效液相色谱(HPLC)法测定组方药材有效成分当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮的含量。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

Waters 2695型高效液相色谱仪,包括Waters 2998

PDA detector型二极管阵列检测器(美国Waters公司);ME204型电子天平(梅特勒-托利多仪器<上海>有限公司,精度为0.1 mg);XS105DU型分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg);SB25-12DT型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);Milli-Q2355型超纯水机(美国Millipore公司)。

#### 1.2 试药

扁蕾颗粒(三普药业有限公司,批号分别为190702,190703,190704,191002,191003);木犀草素对照品(批号为111720-202111,含量99.1%),当药苷对照品(批号为111742-200501,含量99.27%),均购自中国食品药品检定研究院;1,7-二羟基-3,8-二甲氧基呋喃酮对照品(含量>96%),由中国科学院西北高原

\*基金项目:青海省科技计划项目[2023-ZJ-604]。

第一作者:石春兰,女,大学本科,主管药师,研究方向为药品审评,(电子信箱)1292118801@qq.com。

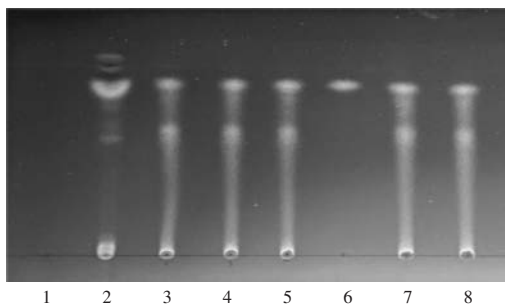
<sup>△</sup>通信作者:刘海青,男,硕士研究生,主任药师,研究方向为中藏药质量控制及审评,(电子信箱)QHDC1958@aliyun.com。

生物研究所孙洪发研究员提供;硅胶G预制薄层板,硅胶GF<sub>254</sub>薄层板(青岛海洋化工有限公司);甲醇、磷酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯;水为超纯水;湿生扁蕾对照药材,采集于青海省海东市互助县,由青海省药品审评核查中心刘海青主任药师鉴定为正品。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别<sup>[7-9]</sup>

分别取5批次扁蕾颗粒样品各适量,置研钵研细,各取约4 g,转移至具塞锥形瓶中,加甲醇50 mL,超声(功率350 W,频率35 kHz)处理30 min,滤过,水浴蒸干,残渣加2 mL甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮适量,分别加甲醇制成每1 mL含1 mg的对照品溶液。按扁蕾颗粒处方及工艺制备缺扁蕾的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。取湿生扁蕾对照药材4 g,加甲醇25 mL,超声(功率350 W,频率35 kHz)处理30 min,滤过,水浴蒸干,残渣加2 mL甲醇使溶解,作为对照药材溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法,吸取上述溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(8:1.5:0.25, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%三氯化铝乙醇溶液,105℃下加热数分钟,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果对照品溶液色谱中,在与供试品溶液色谱相应位置显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1。



1. 阴性对照品溶液 2. 对照药材溶液 3-5,7-8. 供试品溶液  
6. 对照品溶液

图1 薄层色谱图

1. Negative reference solution 2. Reference medicinal solution  
3-5,7-8. Test solution 6. Reference solution

Fig.1 TLC chromatograms

## 2.2 含量测定

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱: Waters SunFire C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇(A) - 0.05%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~5 min时20%A → 25%A, 5~7 min时25%A, 7~30 min时25%A → 55%A, 30~35 min时55%A → 90%A);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 254 nm;柱温: 30℃;进样量: 10 μL<sup>[10-15]</sup>。

### 2.2.2 溶液制备

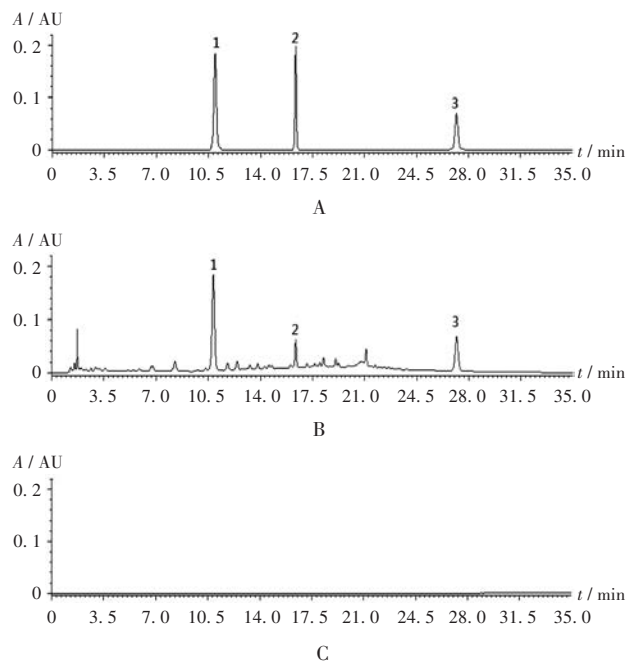
混合对照品溶液: 取当药苷对照品8.10 mg,木犀草素对照品5.71 mg,1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮对照品7.81 mg,精密称定,分别置10,10,50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,作为对照品贮备液;分别取5,2,2 mL,置同一20 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮质量浓度分别为0.201 0,0.056 6,0.015 0 mg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液: 取样品适量,研细,取约0.5 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,超声(功率250 W,频率50 kHz)处理30 min,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液: 按扁蕾颗粒工艺和处方制备不含湿生扁蕾药材的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备,即得。

### 2.2.3 方法学考察<sup>[16-19]</sup>

系统适用性试验及专属性试验: 精密吸取2.2.2项下3种溶液各10 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并采用外标法计算进样量和峰面积。结果各待测成分分离良好,阴性对照无干扰,理论板数以待测成分峰计均不低于3 000,分离度均大于1.5。详见图2。



1. 当药苷 2. 木犀草素 3. 1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮  
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. Sweroside 2. Luteolin 3. 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone

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

Fig.2 HPLC chromatograms

线性关系考察:分别取当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃对照品41.26,14.08,7.81 mg,精密称定,分别加甲醇溶解,制成当药苷质量浓度分别为0.020 5,0.041 0,0.102 4,0.204 8,0.307 2,0.409 6 mg/mL,木犀草素分别为0.005 6,0.011 2,0.027 9,0.055 8,0.083 7,0.111 6 mg/mL,1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃分别为0.001 5,0.003 0,0.007 5,0.015 0,0.022 5,0.030 0 mg/mL的系列混合对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以待测成分质量浓度( $X$ , mg/mL)为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程,当药苷  $Y_1 = 13\ 095\ 403.87X_1 + 54\ 113.68$  ( $r = 0.999\ 6$ ),木犀草素  $Y_2 = 25\ 617\ 524.61X_2 + 2\ 368.70$  ( $r = 0.999\ 8$ ),1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃为  $Y_3 = 67\ 491\ 848.93X_3 - 2\ 666.99$  ( $r = 0.999\ 7$ )。结果表明,当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃质量浓度分别在0.020 5~0.409 6 mg/mL、0.005 6~0.111 6 mg/mL、0.001 5~0.030 0 mg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取混合对照品溶液(木犀草素、当药苷、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃质量浓度分别为0.056 6,0.201 0,0.015 0 mg/mL)10  $\mu$ L,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃峰平均峰面积的RSD分别为0.26%,0.16%,0.27% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,8,16,24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃峰峰面积的RSD分别为0.22%,0.04%,0.79% ( $n = 5$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为190702)6份,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,记录峰面积,并计算含量。结果当药苷、木犀草素、1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃平均含量分别为8.30,1.06,0.74 mg/g,RSD分别为1.06%,0.42%,0.92% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(批号为190702)0.5 g,研细,精密称定,取6份,置锥形瓶中,均分别精密加入2.2.2项下当药苷对照品溶液(0.819 2 mg/mL)5.0 mL,木犀草素对照品溶液(0.558 1 mg/mL)1.0 mL,1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃对照品溶液(0.150 0 mg/mL)2.5 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,记录峰面

表1 加样回收试验结果( $n = 6$ )

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

待测成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
A	0.501 2	4.160 0	4.096 0	8.161 2	97.69	98.24	0.88
	0.490 2	4.068 7	4.096 0	8.134 9	99.27		
	0.499 6	4.146 7	4.096 0	8.140 6	97.51		
	0.507 6	4.213 1	4.096 0	8.221 7	97.87		
	0.508 4	4.219 7	4.094 9	8.290 6	99.41		
	0.500 4	4.153 3	4.096 0	8.156 0	97.72		
B	0.501 2	0.531 3	0.558 1	1.080 1	98.34	98.11	0.93
	0.490 2	0.519 6	0.558 1	1.070 2	98.65		
	0.499 6	0.529 6	0.558 1	1.080 5	98.71		
	0.507 6	0.538 1	0.558 1	1.085 5	98.09		
	0.508 4	0.538 9	0.558 1	1.076 4	96.31		
	0.500 4	0.530 4	0.558 1	1.080 4	98.54		
C	0.501 2	0.370 9	0.375 0	0.741 3	98.78	97.87	1.54
	0.490 2	0.362 7	0.375 0	0.732 6	98.63		
	0.499 6	0.369 7	0.375 0	0.735 7	97.60		
	0.507 6	0.375 6	0.375 0	0.742 1	97.73		
	0.508 4	0.376 2	0.375 0	0.748 9	99.38		
	0.500 4	0.370 3	0.375 0	0.727 0	95.12		

注:A为当药苷,B为木犀草素,C为1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃。表2同。

Note: A refers to sweroside, B refers to luteolin, and C refers to 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyxanthone (for Tab.1-2).

积,并计算加样回收率。结果见表1。

#### 2.2.4 样品含量测定

取5批样品各约0.5 g,精密称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并计算样品含量。结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n = 3$ )

Tab.2 Results of content determination of three components in samples ( $n = 3$ )

批号	A		B		C	
	含量(mg/g)	RSD(%)	含量(mg/g)	RSD(%)	含量(mg/g)	RSD(%)
190702	8.30	1.01	1.06	0.63	0.74	0.96
190703	8.44	1.52	1.11	1.06	0.74	1.13
190704	8.35	0.89	1.09	0.90	0.74	0.57
191002	8.38	1.01	1.07	0.77	0.73	1.04
191003	8.41	1.52	1.06	0.84	0.76	0.97

### 3 讨论

#### 3.1 指标成分选择

制剂组方药材中主要含有吡喃类、黄酮类、萜类化合物,其中1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡喃、木犀草素和当药苷的含量较高,吡喃类和黄酮类化合物具有抗氧化、抗菌、护肝等生物活性,其中木犀草素具有抗腹

泻作用,1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮具有抗菌作用<sup>[20-22]</sup>,熊果酸具有抗炎及抗变态反应作用<sup>[23-24]</sup>,结合扁蓿颗粒功能主治,尝试对上述4种成分进行了定性、定量研究,结果建立了1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮的TLC鉴别方法;同时建立了测定1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮、木犀草素和当药苷含量的HPLC法。

### 3.2 TLC 鉴别试验条件

TLC鉴别研究过程中,针对不同的(极性)提取溶剂(甲醇、乙醇、水),提取方法(超声、回流、冷浸),提取时间(20,30,40 min),展开剂[环己烷-乙酸乙酯-甲酸(8:9:0.5)、正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(8:9:0.2)、正己烷-乙酸乙酯-甲酸(12:13.5:1.5)、甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)、甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(10:6:1:0.7)、三氯甲烷-甲醇-甲酸(7:2:0.5)、三氯甲烷-甲醇-水(15:5:1.5),比例均为体积比],不同薄层板(硅胶G薄层板、硅胶GF<sub>254</sub>薄层板)进行了考察。根据色谱分离效果、斑点显色结果,最终确定了本试验中的样品制备方法和薄层色谱展开条件,该条件下样品分离良好,斑点清晰,重复性较好。

### 3.3 样品含量测定提取方法

预试验中比较了超声和回流提取法对3种待测成分提取率的影响,结果无显著差异,且前者更简便,故选择超声提取。比较了不同提取溶剂(水、甲醇、70%乙醇、95%乙醇、三氯甲烷),提取时间(20,30,40 min)和提取量(25,50 mL)对3种待测成分提取率的影响,最终确定了本试验中的供试品溶液制备方法。国家药品监督管理局官网检索结果显示,扁蓿颗粒仅1家企业生产,收集到的5批样品含量测定结果基本接近,说明生产企业在原材料、生产工艺等方面控制较好。

### 3.4 方法评价

本研究中建立的有效成分的TLC定性鉴别方法及测定3种主要有效成分含量的HPLC法,方法简便、高效,结果准确,能为扁蓿颗粒的质量控制提供参考。

### 参考文献

[1] 娜布其,白硕雅,辛颖,等.蒙药扁蓿研究进展[J].中国民族民间医药,2022,31(21):64-70.  
[2] 景明,罗永皎,刘喜平,等.藏药湿生扁蓿提取物的止泻作用及其急性毒性研究[J].中成药,2011,33(6):1049-1050.  
[3] 景明,罗永皎,陈正君,等.藏药湿生扁蓿提取物治疗小鼠溃疡性结肠炎的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):113-116.  
[4] 罗小文,李佳川,谭睿,等.湿生扁蓿对小鼠抗炎镇痛作用研究[J].中药药理与临床,2013,29(1):97-99.

[5] 景明,陈晖,刘喜平,等.藏药湿生扁蓿抗大鼠实验性溃疡性结肠炎有效部位筛选研究[J].中药材,2011,34(12):1934-1936.  
[6] ZZ-8372,卫生部药品标准·蒙药分册[S].  
[7] 阳勇,钟国跃,武小赞,等.常用藏药“蒂达(藏茵陈)”各品种的薄层色谱鉴别研究[J].中国中药杂志,2013,38(5):757-761.  
[8] 孙跃宁,罗明英.湿生扁蓿药材的薄层色谱鉴别和含量测定研究[J].食品与药品,2017,19(2):127-129.  
[9] 新红,鲍布日额,陈香梅,等.薄层色谱法鉴别扁蓿的化学成分研究[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(18):152-153.  
[10] 次仁旺姆.藏药绿绒蒿的质量标准研究[J].中国民族民间医药,2016,25(11):1-3.  
[11] 王焕弟,谭成玉,赵静玫,等.HPLC测定藏药湿生扁蓿中2种有效成分的含量[J].药物分析杂志,2007,27(3):421-423.  
[12] 冯丽娟,纪兰菊.RP-HPLC法同时测定湿生扁蓿中4种有效成分的含量[J].分析试验室,2008,27(Z2):147-149.  
[13] 卢年华,赵慧巧,景明,等.HPLC与HPCE结合测定复方湿生扁蓿胶囊中6种化学成分含量[J].中国中医药信息杂志,2016,23(12):86-90.  
[14] 张楠,许苗苗,杜赞赞,等.抱茎獐牙菜指纹图谱及4种有效成分含量测定研究[J].现代中药研究与实践,2022,36(5):49-54.  
[15] 刘安平,苏媛,刘学良,等.HPLC法同时测定山地虎耳草中5种成分[J].中国药师,2022,25(10):1826-1829.  
[16] 孙紫薇,翁丽丽,张楠,等.龙胆中当药苷和獐牙菜苦苷的含量测定及指纹图谱研究[J].长春中医药大学学报,2018,34(5):864-867.  
[17] 于晓,李松涛,刘建升,等.RP-HPLC法同时测定忍冬藤中绿原酸、马钱苷、当药苷含量的研究[J].山东农业科学,2015,47(9):124-126.  
[18] 李维业,刘学良,刘安平,等.高效液相色谱法测定辐状肋柱花中10种成分的含量[J].中南药学,2022,20(9):2155-2159.  
[19] 景明,李季文,樊秦,等.反相高效液相色谱法测定湿生扁蓿中木犀草素和1,7-二羟基-3,8-二甲氧基吡啶酮的含量[J].中国中医药信息杂志,2008,15(3):43-44.  
[20] 王焕弟.藏药湿生扁蓿的化学成分及生物活性研究[D].大连:中国科学院大连化学物理研究所,2006.  
[21] 米琴,曹长年,王慧春,等.湿生扁蓿有效成分抑菌活性的测定[J].青海大学学报(自然科学版),2004,22(2):84-85.  
[22] 王伟,何平,江小明.木犀草素及其黄酮苷的抗炎、抗氧化作用[J].食品科学,2020,41(17):208-215.  
[23] 李美睢,卢婷,赵建云,等.齐墩果酸和熊果酸的测定方法与药理作用研究进展[J].青海草业,2020,29(4):58-63.  
[24] 张明发,沈雅琴.齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应[J].抗感染药学,2011,8(4):235-240.

(收稿日期:2023-01-19;修回日期:2023-07-16)