

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)16-0096-04  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.16.022



## 脂脱劲颗粒质量标准提升研究\*

唐安福, 苏倩雯, 崔恩忠, 汤 淏, 潘海娟<sup>△</sup>

(中国人民解放军东部战区总医院, 江苏 南京 210002)

**摘要:**目的 建立脂脱劲颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的制何首乌、女贞子、茯苓、木瓜;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中芍药苷的含量,色谱柱为 Agilent Hadera Lichrospher 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(18:82, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 230 nm,柱温为 35 °C,进样量为 10 μL。结果 制何首乌、女贞子、茯苓、木瓜的 TLC 图斑点清晰,分离度好,且阴性对照无干扰。芍药苷质量浓度在 21~168 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好( $r=0.9995, n=5$ );精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 3.0%,平均加样回收率为 100.64%,RSD 为 1.64%( $n=9$ )。结论 该方法操作简便,结果准确可靠,可用于脂脱劲颗粒的质量控制。

**关键词:**脂脱劲颗粒;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;含量测定

### Improvement of Quality Standard of Zhituojing Granules

TANG Anfu, SU Qianwen, CUI Enzhong, TANG Hao, PAN Haijuan

(General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing, Jiangsu, China 210002)

**Abstract: Objective** To establish a quality standard of Zhituojing Granules. **Methods** Polygoni Multiflori Radix Praeparata, Ligustri Lucidi Fructus, Poria and Chaenomelis Fructus in the preparation were qualitatively identified by the thin-layer chromatography (TLC) method. The content of paeoniflorin in the preparation was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method; the chromatographic column was the Agilent Hadera Lichrospher column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.1% phosphoric acid aqueous solution (18:82, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 230 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC chromatograms of Polygoni Multiflori Radix Praeparata, Ligustri Lucidi Fructus, Poria and Chaenomelis Fructus showed clear spots, good resolution, and there was no interference from the negative reference. The linear range of paeoniflorin was 21 - 168 μg/mL ( $r=0.9995, n=5$ ). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 3.0%. The average recovery rate of paeoniflorin was 100.64% with an RSD of 1.64% ( $n=9$ ). **Conclusion** This method is easy, accurate and reliable, which can be used for the quality control of Zhituojing Granules.

**Key words:** Zhituojing Granules; quality standard; TLC; HPLC; content determination

脂脱劲颗粒由白鲜皮、茯苓、制何首乌、牡丹皮、陈皮、赤芍、白芍等17味中药组方,有清热利湿、养血生发功效,临床用于防治脂溢性脱发。其现行标准《中国人民解放军医疗机构制剂标准》中仅对赤芍、制何首乌进行了薄层色谱(TLC)鉴别,未对指标性成分进行定量控制。为进一步提高其质量,本研究中建立了制剂中何首乌、女贞子、茯苓、木瓜的TLC鉴别法<sup>[1-2]</sup>,同时对白芍、赤芍、牡丹皮中的芍药苷进行含量测定,不仅能更全面地控制制剂质量<sup>[3-5]</sup>,也能为脂脱劲颗粒质量标准的建立提供依据。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

Agilent1100型高效液相色谱仪(美国Agilent Technologies公司,配有二极管阵列检测器);XS105型电子

天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg);KQ5200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SC202-00型电热恒温干燥箱(南通市沪通制药机械设备厂);HH-6型数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司)。

#### 1.2 试药

脂脱劲颗粒(医院制剂室,批号分别为140716,141102,141215,150208,规格为每袋10 g);女贞子对照药材(批号为121041-200302)、茯苓对照药材(批号为121117-201308)、木瓜对照药材(批号为121003-200504),大黄素对照品(批号为110756-200110,含量96.00%)、芍药苷对照品(批号为110736-201337,含量98.21%),均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工有限公司);甲醇为色谱纯,其余

\*基金项目:中国人民解放军军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题[14ZJZ16-3]。

第一作者:唐安福,男,硕士,副主任中药师,研究方向为中药新制剂,(电话)025-80860343。

<sup>△</sup>通信作者:潘海娟,女,大学本科,研究方向为中药新制剂,(电子信箱)ahf5499@sina.com。

试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

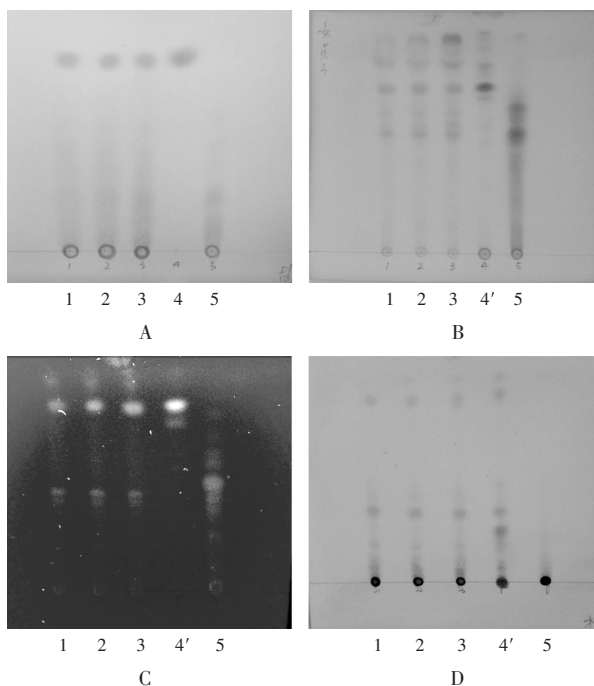
制何首乌:取样品3批(批号为141102,141215,150208),各30 g,精密称定,加入150 mL无水乙醇,回流提取1 h,滤过后蒸干滤液,加30 mL水和3 mL盐酸,回流提取30 min,冷却至室温,分别用15 mL乙醚提取3次,合并提取液,蒸干后残渣加2 mL甲醇溶解,即得供试品溶液。取大黄素对照品适量,加入甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按脂脱劲颗粒处方及工艺制备缺制何首乌的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验<sup>[6]</sup>,取上述3种溶液各20 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-二氯甲烷-甲酸(10:3:3:0.2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%氢氧化钾乙醇溶液,置日光灯下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 A。

女贞子:取样品3批(批号为141102,141215,

150208),各20 g,精密称定,加入100 mL二氯甲烷,回流提取2 h,滤过后蒸干滤液,加1 mL二氯甲烷-甲醇(1:1, V/V)溶解,即得供试品溶液。取女贞子对照药材0.5 g,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。按脂脱劲颗粒处方及工艺制备缺女贞子的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验<sup>[6]</sup>,取上述3种溶液各20 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-丙酮-乙酸乙酯(4:2:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105 °C加热至斑点显色清晰,置日光灯下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 B。

茯苓:取样品3批(批号为141102,141215,150208),各40 g,精密称定,加入50 mL乙醚,超声(功率250 W、频率40 kHz,下同)提取30 min,滤过后蒸干滤液,加入1 mL甲醇溶解,即得供试品溶液。取茯苓对照药材2 g,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。按脂脱劲颗粒处方及工艺制备缺茯苓的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验<sup>[6]</sup>,取上述3种溶液各6 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(15:10:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(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颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 C。

木瓜:取样品3批(批号为141102,141215,150208),各30 g,加入50 mL乙醚,回流提取1 h,取水层并挥尽乙醚,加入50 mL乙醇,水浴加热回流提取1 h,滤过后蒸干,加入1 mL甲醇使溶解,即得供试品溶液。取木瓜对照药材1 g,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。按脂脱劲颗粒处方及工艺制备缺木瓜的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验<sup>[6]</sup>,取上述3种溶液各6 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-丙酮-乙酸乙酯-甲酸(6:1:0.5:0.1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105 °C加热至斑点显色清晰,置日光灯下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 D。



1 - 3. 供试品溶液(批号分别为141102,141215,150208)  
4. 对照品溶液 4'. 对照药材溶液 5. 阴性对照品溶液  
A. 制何首乌 B. 女贞子 C. 茯苓 D. 木瓜

图1 薄层色谱图

1 - 3. Test solution (batch numbers:141102,141215,150208)  
4. Reference solution 4'. Reference medicinal material solution  
5. Negative reference solution  
A. Polygoni Multiflori Radix Praeparata B. Ligustri Lucidi Fructus  
C. Poria D. Chaenomelis Fructus

Fig.1 TLC chromatograms

### 2.2 含量测定

#### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Hadera Lichrospher 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液(18:82, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:

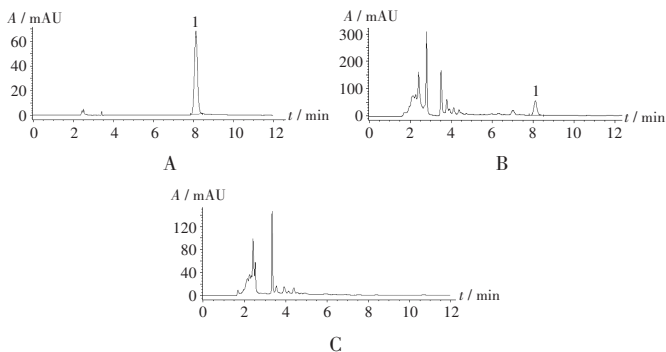
35 °C;进样量:10 μL。

### 2.2.2 溶液制备

取芍药苷对照品适量,精密称定,加50%甲醇溶液,制成质量浓度为168 μg/mL的对照品溶液。取样品适量,研为粉末(过4号筛),取约1.0 g,精密称定,置锥形瓶中,称定质量,加50%甲醇溶液25 mL超声提取30 min。冷却至室温,再次称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按脂脱劲颗粒处方和工艺制备缺白芍、赤芍、牡丹皮的阴性样品<sup>[7]</sup>,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: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。结果供试品溶液色谱图中,在与对照品溶液色谱相应位置有色谱峰,且阴性对照无干扰<sup>[8]</sup>。详见图2。



1. 芍药苷

A. 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. Paeoniflorin

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

Fig. 2 HPLC chromatograms

线性关系考察:精密量取2.2.2项下对照品溶液5 mL,置100 mL容量瓶中,逐级稀释<sup>[5]</sup>,制成质量浓度分别为168, 84, 63, 42, 21 μg/mL的系列对照品溶液。按2.2.1项下色谱条件进样测定,以待测成分的质量浓度( $X$ , μg/mL)为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 12.699X - 53.199$  ( $r = 0.9995$ ,  $n = 5$ )。结果表明,芍药苷质量浓度在21~168 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2.2项下对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定5次,记录峰面积。结果芍药苷峰面积的RSD为0.84% ( $n = 5$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液(批号为140716)适量,分别于室温下放置0, 1, 2, 4, 6, 8 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果芍药苷峰面积的RSD为2.08% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液室温下放置8 h内基本稳定。

重复性试验:取同一批样品(批号为140716)适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果芍药苷的平均含量为1.11 mg/g, RSD为1.30% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为140716)已知含量的样品0.5 g,精密称定,平行9份,分别精密加入对照品溶液2.6, 3.3, 4.0 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,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n = 9$ )

Tab. 1 Results of the recovery test ( $n = 9$ )

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.562	0.437	1.013	103.20		
0.580	0.437	1.022	101.14		
0.566	0.437	1.001	99.54		
0.580	0.554	1.149	102.71		
0.565	0.554	1.118	99.82	100.64	1.64
0.584	0.554	1.145	101.26		
0.607	0.672	1.284	100.74		
0.602	0.672	1.261	98.07		
0.611	0.672	1.278	99.26		

### 2.2.4 样品含量测定

取4批样品适量,精密称定,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,并计算芍药苷的含量。结果4批样品中芍药苷的含量分别为1.799, 1.813, 1.797, 1.360 mg/g,平均含量为1.692 mg/g。

## 3 讨论

### 3.1 定量指标的选择

预试验中,君药白鲜皮及臣药茯苓、制何首乌中均无法选择定量指标。方中白芍止痛平肝、柔肝补血、收汗敛阴、平抑肝阳,赤芍清热凉血、散瘀止痛,牡丹皮清热凉血、活血化瘀,三者均含芍药苷。芍药苷属水溶性单萜类糖苷化合物,为脂脱劲颗粒的活性成分,具有抗炎、抗血栓、扩张血管、镇痛镇静、抗氧化、抗溃疡、解热解痉、神经保护、抗肿瘤、利尿等多种药理学作用<sup>[9-11]</sup>。经预试验考察建立了较稳定的芍药苷含量测定方法,故最终选择芍药苷为定量指标。

### 3.2 TLC鉴别项的选择

脂脱劲颗粒所含化学成分复杂,现行标准中仅对赤芍、女贞子、制何首乌进行了TLC鉴别。预试验中对墨旱莲、野菊花、陈皮、茵陈、茯苓、木瓜等进行了TLC鉴别研究,结果前4种药味均出现阴性干扰,最终仅建立了茯苓和木瓜的TLC鉴别方法;因含量测定项中增