

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.19.017

香芍散结口服液质量标准研究*

欧阳冰,王显凤,宋宏宇,龙世林,王林丽[△]

(中国人民解放军陆军军医大学大坪医院药剂科,重庆 400042)

摘要:目的 建立香芍散结口服液的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法定性鉴别处方中当归、白芍、丹参、香附,采用高效液相色谱法测定白芍中主要成分芍药苷的含量。结果 薄层色谱图斑点清晰,阴性对照无干扰。芍药苷进样质量浓度在0.007 482~0.249 4 mg/mL($n=7$)范围内与峰面积线性关系良好,平均加样回收率为98.90%,RSD为1.29%($n=9$)。结论 该方法简单,专属性强,结果准确、可靠,可有效控制香芍散结口服液的质量。

关键词:香芍散结口服液;白芍;芍药苷;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量控制

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)19-0061-04

Quality Standard of Xiangshao Sanjie Oral Solution

OUYANG Bing, WANG Xianfeng, SONG Hongyu, LONG Shilin, WANG Linli

(Department of Pharmacy, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing, China 400042)

Abstract: Objective To establish a quality control method for Xiangshao Sanjie Oral Solution. **Methods** Thin layer chromatography (TLC) method was used for the identification of *Radix Angelicae Sinensis*, *Radix Paeoniae Alba*, *Radix Salviae miltiorrhizae* and *Rhizoma Cyperi*. High performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the content of paeoniflorin from *Radix Paeoniae Alba*. **Results** The thin layer chromatogram had clear spots, and the negative control showed no interference. The mass concentration of paeoniflorin showed good linear relationship with the peak area in the range of 0.007 482~0.249 4 mg/mL($n=7$). The average recovery was 98.90%, and the RSD was 1.29%($n=9$). **Conclusion** The method is simple, specific, accurate and reliable, and can effectively control the quality of Xiangshao Sanjie Oral Solution.

Key words: Xiangshao Sanjie Oral Solution; *Radix Paeoniae Alba*; paeoniflorin; thin layer chromatography; high performance liquid chromatography; quality control

香芍散结口服液是中国人民解放军陆军军医大学大坪医院药剂科王林丽主任中药师根据中医理论,经多年基础科研和临床实践研制而成的中药制剂,为我院非标准中药制剂^[1],由香附、当归、丹参、白芍等中药组方,具有疏肝解郁、养血柔肝、活血化瘀、理气止痛、清热散结等功效,对乳腺增生症、男性乳腺发育症有明显疗效。本研究中采用薄层色谱(TLC)法对方中白芍、当归、丹参、香附进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定方中白芍主要活性成分芍药苷的含量,以控制该制剂的质量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Aglient 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司);Sartorius BT25S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司,精度为十万分之一);KQ-50B 型超声波清洗仪(昆明市超声仪器有限公司,功率为500 W,频率为40 kHz);双槽层析缸;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂分厂,规格为100 mm×200 mm)。

1.2 试剂

芍药苷对照品(批号为110736-201438,含量为96.4%),阿魏酸对照品(批号为110773-201313),当归对照药材(批号为120927-201014),原儿茶醛(批号为110810-201007), α -香附酮(批号为110748-201513),均购自中国食品药品检定研究院;香芍散结口服液(医院制剂,批号分别为170104,170224,170324);甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

白芍:取样品20 mL,分别用20 mL水饱和正丁醇提取3次,合并提取液,水浴蒸干,残渣加2 mL乙醇溶解,作为供试品溶液。再取缺白芍的样品药材,同法制备阴性对照品溶液。另取芍药苷对照品,精密称定,用甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(40:5:10:0.2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,于105℃加热至斑点显色清晰。供试品溶

*基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题[13ZJZ01-6]。

第一作者:欧阳冰,男,大学本科,主管药师,研究方向为医院制剂,(电子信箱)478678231@qq.com。

[△]通信作者:王林丽,女,大学本科,主任中药师,研究方向为中药制剂,(电子信箱)wll20126@163.com。

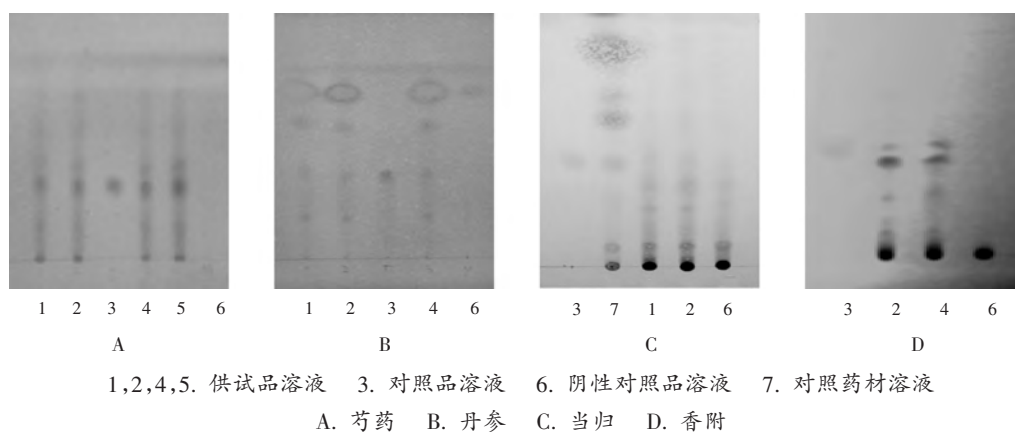


图1 薄层色谱图

液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1A。

丹参:取样品30 mL,分别用25 mL乙醚萃取2次,合并提取液,水浴蒸干,用无水乙醇1 mL溶解残渣,作为供试品溶液。再取缺丹参的样品药材,同法制备阴性对照品溶液。另取原儿茶醛对照品,精密称定,加乙醇制成质量浓度为1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各10 μ L,分别点于同一羧甲基纤维素钠硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-无水甲酸(10:0.8:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%间苯三酚无水乙醇硫酸(1:1)混合溶液。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1B。

当归:取样品10 mL,加20 mL水饱和乙酸乙酯处理,提取液水浴蒸干,残渣用无水乙醇1 mL溶解,作为供试品溶液。再取缺当归的样品药材,同法制备阴性对照品溶液。另取阿魏酸对照品,精密称定,加乙醇制成质量浓度为1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-甲酸(2:1:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,在105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。详见图1C。

香附:取样品20 mL,置100 mL容量瓶中,加甲醇30 mL,超声30 min,滤过,水浴蒸干,残渣用甲醇1 mL溶解,作为供试品溶液。再取缺香附的样品药材,同法制备阴性对照品溶液。另取 α -香附酮对照品,精密称定,用乙酸乙酯制成质量浓度为1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶GF₂₅₄上,以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(10:2:2:0.1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶

液色谱相应位置上显相同的黄色斑点,阴性对照无干扰。详见图1D。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(15:85, V/V);柱温:室温;流速:1 mL/min;进样量:10 mL;检测波长:230 nm。

2.2.2 溶液制备

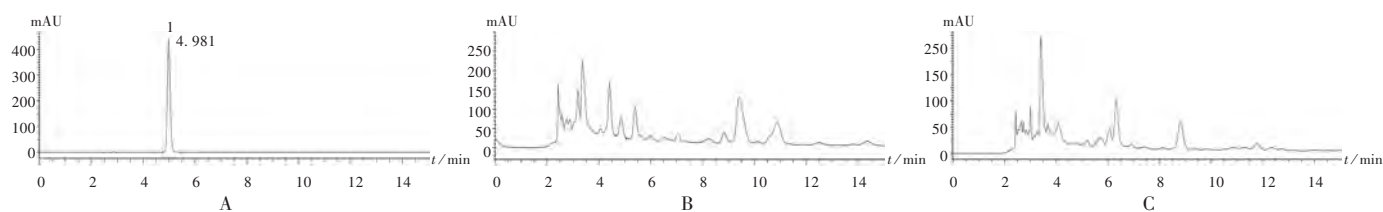
取干燥至恒重的芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,定容至50 mL容量瓶中,制成质量浓度为50 μ g/mL的对照品溶液。精密吸取5 mL,置50 mL容量瓶中,加稀乙醇30 mL,超声处理(功率为250 W,频率为50 kHz)30 min,放冷,加稀乙醇稀释至刻度,取续滤液作为供试品溶液。按处方组成精密量取缺白芍药材的香芍散结口服液阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

空白干扰试验:取2.2.2项下3种溶液,按拟订色谱条件进样检测,对照品芍药苷溶液色谱的保留时间约5 min,供试品溶液色谱中的芍药苷与其他成分达基线分离,分离较好,阴性对照无干扰。色谱图见图2。

线性关系考察:取芍药苷对照品24.94 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,静置,即得质量浓度为0.2494 mg/mL的芍药苷贮备溶液,精密吸取上述贮备溶液适量,置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,配制成7个不同质量浓度的梯度对照品溶液(0.007482, 0.02494, 0.04998, 0.07482, 0.09976, 0.14964, 0.24940 mg/mL),依次测定。以质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 40485X + 80.775$, $R^2 = 0.9983$ ($n = 7$)。结果表明,芍药苷质量浓度在0.007482~0.2494 mg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密量取对照品溶液10 μ L,按拟订色谱条件重复进样6次。结果峰面积的RSD为0.72%



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

($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液(批号为170104),分别于0,1,2,4,8,12 h时按拟订色谱条件进样测定。结果峰面积的RSD为0.49% ($n=6$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为170104)5份,依法平行制备供试品溶液,并按拟订色谱条件进样测定样品中芍药苷的平均含量。结果平均含量为0.62 mg/mL,峰面积的RSD为1.17% ($n=5$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的样品(批号为170104)2.5 mL,置50 mL容量瓶中,按低、中、高浓度分别精密加入芍药苷对照品溶液(0.249 4 mg/mL)5.6, 9.3, 13.0 mL,依法平行制备3份供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,并计算回收率。结果见表1。

表1 芍药苷加样回收试验结果($n=9$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
2.325	1.397	3.684	97.28		
2.325	1.397	3.688	97.57		
2.325	1.397	3.678	96.85		
2.325	2.319	4.642	99.91		
2.325	2.319	4.645	100.04	98.90	1.29
2.325	2.319	4.640	99.83		
2.325	3.242	5.553	99.57		
2.325	3.242	5.547	99.38		
2.325	3.242	5.556	99.66		

定量限测定:取芍药苷对照品溶液(0.007482 mg/mL)适量,置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制备成不同质量浓度的梯度对照品溶液,依法进样测定,取芍药苷信噪比(S/N)为10:1时的质量浓度作为定量限,结果为0.194 1 μ g/mL。

2.2.4 样品含量测定

取3批样品,每批3份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,并计算香芍散结口服液中芍药苷的含量。结果见表2。

3 讨论

香芍散结口服液是临床验方,疗效确切,但缺乏内在质量控制方法,制剂质量稳定性难以保障,可能会影

表2 3批样品中芍药苷含量测定结果($n=3$)

批号	平均含量(mg/mL)	RSD(%)
170104	0.93	1.51
170224	0.67	0.94
170324	0.94	1.70

响其临床疗效的稳定。该制剂含14味中药,成分复杂,干扰多,给质量控制方法的建立带来一定困难。选取方中的主药香附、当归、丹参、白芍进行TLC鉴别,通过系统的样品预处理,展开剂优化,并均做阴性对照试验。结果表明,各药材的主要薄层斑点均不受其他药材干扰,经方法学考察验证,表明该方法专属性强,重复性好,可用于方中主要药材香附、当归、丹参、白芍的定性鉴别。

白芍是香芍散结口服液中的主药,而芍药苷是白芍主要活性成分,药理作用多样,具有抗炎、镇痛、抗菌、抗氧化、抗癌、抗抑郁和抗肝纤维化等功效,对自身免疫性疾病、心脑血管疾病和神经退行性疾病也能起到改善和治疗作用^[2-5],是香芍散结口服液发挥疏肝解郁、理气止痛等功效的重要物质基础,故选择芍药苷作为香芍散结口服液质量控制定量指标成分。通过样品预处理、色谱柱选择和流动相优化等建立了该制剂中芍药苷的定量分析方法。查阅文献^[6-15],本研究中建立的方法在柱效和分离度方面均得到了优化,简便快捷,准确度较高,可为香芍散结口服液质量标准的提升奠定基础。

参考文献:

- [1] 王林丽,孟德胜,何双梧,等. 香芍散结口服液治疗乳腺增生症540例[J]. 中国药业,2011,20(18):67-68.
- [2] 郑世存,李晓宇,欧阳兵,等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中国药物警戒,2012,9(2):100-103.
- [3] 金英善,陈曼丽,陶俊. 芍药化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2013,27(4):745-750.
- [4] 胡增晓,徐岚,闫蓉,等. 芍药苷作用于神经系统的研究进展[J]. 中国中药杂志,2013,38(3):297-301.
- [5] 韩连凤,刘发. 中药白芍的止痛作用[J]. 黑龙江医药,2006,19(3):219.
- [6] 唐安福,崔思忠,汤溪. ZTC1+1-Ⅲ型澄清剂用于白芍提取液澄清工艺的研究[J]. 中国药业,2013,22(8):59-61.
- [7] 王莉,马金秋,韩秀梅. 排石通口服液的制备、质量控制与稳定性考察[J]. 中国药业,2011,20(9):33-34.