

· 研究报告 ·

舒肝和胃丸质量标准研究

胡丹¹, 尹明², 曹红¹, 单婷婷¹, 张贵英¹ (1. 联勤保障部队药品仪器监督检验总站 北京 100166; 2. 解放军总医院第二医学中心急诊科 北京 100853)

[摘要] 目的 修订舒肝和胃丸的质量控制方法。方法 采用 TLC 法对木香、佛手和陈皮药材进行鉴别; 采用 HPLC 法同时测定去甲异波尔多定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖与橙皮苷 5 种成分的含量。结果 木香、佛手和陈皮药材的 TLC 鉴别方法简单可行; 去甲异波尔多定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖与橙皮苷 5 种成分与其他色谱峰得到良好的分离, 平均回收率分别为 98.44%、100.99%、99.04%、100.15% 和 101.61%; RSD 分别为 1.84%、1.86%、1.82%、1.98%、1.82%。结论 该方法简便、准确, 重现性好, 可用于控制该产品质量。

[关键词] 舒肝和胃丸; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R931 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)06-0532-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.06.012

Quality standard for Shugan Hewei pills

HU Dan¹, YIN Ming², CAO Hong¹, SHAN Tingting¹, ZHANG Guiying¹ (1. General Station for Drug and Instrument Supervision and Control, Joint Logistics Support Force, PLA, Beijing 100166, China; 2. The Emergency department of The Second Medical Center and National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[Abstract] **Objective** To revise and improve the quality standard for Shugan Hewei pills. **Methods** TLC was used for the identification of costustoot, fingered citrona and orange peel. The content of norisoboldine, albiflorin, paeoniflorin, pentagalloylglucose and hesperidin was determined by HPLC. **Results** Costustoot, fingered citrona and orange peel could be detected by TLC. Norisoboldine, albiflorin, paeoniflorin, pentagalloylglucose and hesperidin were well separated under the chromatographic condition. The average recovery was 98.44% (RSD=1.84%), 100.99% (RSD=1.86%), 99.04% (RSD=1.82%), 100.15% (RSD=1.98%), 101.61% (RSD=1.82%). **Conclusion** The method is simple and accurate, reproducible, and can be used to control the quality of the preparation.

[Key words] Shugan Hewei pills; quality standard; TLC; HPLC

舒肝和胃丸是由醋香附、白芍等十三味药材组成的中药复方制剂, 用于肝胃不和、两肋胀满等。该品种是《中国药典》2015 年版一部品种, 原检验项目设置较全面, 但通过实验, 将薄层部分进行优化、整合, 增加了木香、佛手和陈皮药材的 TLC 鉴别。文献[1-3]只有芍药苷、橙皮苷单纯的指标性含量测定的方法, 不能全面反映药品的质量。文献[4-9]表明白芍总苷(TGP)是白芍的有效部位, 含有芍药苷、芍药内酯苷(albiflorin)等一系列单萜糖苷类化合物。已经证明白芍总苷的药理作用多样, 其中芍药内酯苷为白芍的特征性成分, 在补血、抗抑郁、糖尿

病潜在治疗方面优于芍药苷; 1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖有良好的抗肿瘤效果。去甲异波尔多定属于异喹啉生物碱, 是中药材乌药的主要药效之一, 具有较强的药理活性, 针对关节炎也有很好的疗效; 橙皮苷是一种天然的二氢黄酮苷, 属黄酮类化合物, 是陈皮和佛手的主要活性成分之一且性质稳定, 在该方剂中含量较高。考虑到上述几种成分较强的药理学作用和含量较高等原因, 测定单一成分难以反映药材整体质量, 故尝试建立了 HPLC 法测定同一供试品溶液中去甲异波尔多定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖与橙皮苷 5 种成分的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪 Agilent 1200 (美国, 含 DAD 检测器); 电子天平 XS-205DU (METTLER TOLEDO); 超声波清洗器 KQ-300E (昆山市超声仪器有

[基金项目] 2017 年国家药品标准工作(WX-17-15)

[作者简介] 胡丹, 硕士, 主管药师, 研究方向: 中药质量标准提高的研究。Email: hudan1006@sina.com

[通讯作者] 尹明, 博士, 副主任医师, 副教授。研究方向: 老年多器官功能障碍综合症的急救。Email: ym301@163.com

限公司)。

1.2 材料

对照品:去甲异波尔定(批号:111825-201402, 95.7%),芍药苷(批号:110752-200912, 98.7%),橙皮苷(批号:110721-201316, 95.1%),均购于中国药品生物制品检定研究院。芍药内酯苷(批号:76610010, 98.72%)1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖(批号:76620010, 99.39%)均购于上海安谱试验科技股份有限公司

对照药材:木香(批号:120921-201309);陈皮(批号:120921-201309);白芍(批号:120905-201109);佛手(批号:120933-201405);均购于中国药品生物制品检定研究院。

试剂:乙腈、甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

药品:舒肝和胃丸水蜜丸(A企业,批号16032993);(B企业,批号160303);(C企业,批号20160502);均为9g/丸。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 木香、佛手

取本品水蜜丸5g,研碎,加入石油醚(30℃~60℃)约60ml,静置30min,超声30min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1ml使溶解,作为供试品溶液。取木香、佛手对照药材各1g,加石油醚(30℃~60℃)10ml,分别按上述方法制成对照药材溶液。另按处方量分别制备缺木香、佛手的阴性对照品溶液。按薄层色谱法(通则0502)试验,分别吸取上述4种溶液各5 μ l,点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲苯(1:15)为展开剂,展开,取出,晾干。在日光下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置,显相同颜色的斑点(木香)。在紫外(365nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置,显相同颜色的斑点(佛手)。阴性无干扰,结果见图1、图2。

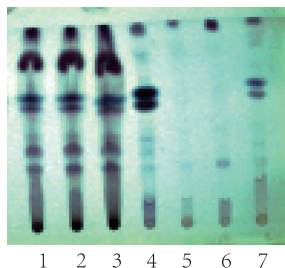


图1 木香薄层色谱图

(青岛海洋板,温度:23℃ 相对湿度:35%)

1~3(S1~S3). 供试品;4. 木香药材;5. 缺木香阴性对照;

6. 佛手药材;7. 缺佛手阴性对照

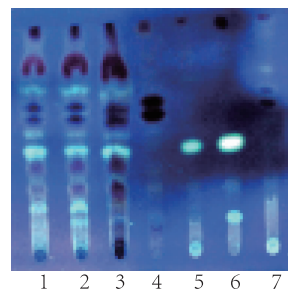


图2 佛手薄层色谱图

(青岛海洋板,温度:23℃ 相对湿度:35%)

1~3(S1~S3). 供试品;4. 木香药材;5. 缺木香阴性对照;

6. 佛手药材;7. 缺佛手阴性对照

2.1.2 橙皮苷(陈皮、佛手)

取本品水蜜丸7g,研碎。加甲醇50ml,回流1h,滤过,取滤液1ml作为供试品溶液,其余备用。另取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。另按处方量分别制备缺陈皮和佛手的阴性对照品溶液。按照薄层色谱法(通则0502),吸取上述3种溶液各5 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(28:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%三氯化铝溶液,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性无干扰,结果见图3。

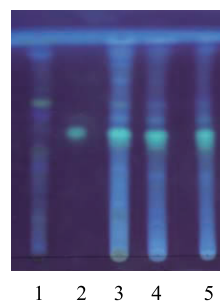


图3 橙皮苷薄层色谱图

(青岛海洋板,温度:23℃ 相对湿度:35%)

1. 阴性对照品;2. 对照品;3~5(S1~S3). 供试品

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:CAPCELL PAK C₁₈(5 μ m, 4.6mm \times 250mm);流动相:0.2%磷酸(A)-乙腈(B)(v/v);采用梯度洗脱,程序如下:0~30min,10%B;31~45min,11%~15%B;46~59min,16%~19%B;60~74min,20%~21%B,流速:1.0ml/min;检测波长:283nm;柱温:35℃,进样体积:10 μ l;

2.2.2 对照品溶液的制备

取去甲异波尔定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖、橙皮苷对照品适量,精密

称定,加稀乙醇制成每1 ml含去甲异波尔多定 $3\ \mu\text{g}$ 、芍药内酯苷 $10\ \mu\text{g}$ 、芍药苷 $15\ \mu\text{g}$ 、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖 $4\ \mu\text{g}$ 、橙皮苷 $10\ \mu\text{g}$ 的混合溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备

取本品水蜜丸研细,取约 0.55g ,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 25ml ,密塞,称定重量,超声处理 30min ,放冷,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 专属性试验

按处方工艺,分别制备缺乌药、佛手、陈皮、白芍的阴性对照样品。按供试品溶液的制备方法制成各自阴性对照溶液。分别吸取对照品混合溶液、供试品溶液、5种阴性对照溶液各 $10\ \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,按“2.2.1”项下的色谱条件,进样测定,记录色谱图(见图4),样品中去甲异波尔多定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖、橙皮苷峰与其他组分色谱峰能达到基线分离,理论板数按芍药苷峰计算不得低于 3000 ,阴性对照液中色谱峰测定无干扰。

2.2.5 线性关系考察

取“2.2.2”项下混合对照品溶液,分别进样 1 、 5 、 10 、 15 、 $20\ \mu\text{l}$ 注入液相色谱仪,按“2.2.1”项色谱条件测定峰面积,以进样量(X , μg)为横坐标,峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,计算回归方程。去甲异波尔多定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖、橙皮苷的回归方程,呈良好的线性关系,结果见表1。

2.2.6 重复性试验

取同一批号的舒肝和胃丸(批号16032993)的样品6份,照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,测定其含量,结果显示,去甲异波尔多定平均含量为 0.11mg/g ,RSD为 1.83% ;芍药内酯苷平均含量为 0.21mg/g ,RSD为 1.06% ;芍药苷平均含量为 0.63mg/g ,RSD为 1.65% ;1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖平均含量为 0.14mg/g ,RSD为 1.33% ;橙皮苷平均含量为 1.01mg/g ,RSD为 1.31% 。表明方法的重复性较好。

2.2.7 稳定性试验

取同一批号的舒肝和胃丸(批号16032993)的样品,照“2.2.3”项下方法配制供试品溶液,精密吸取 $10\ \mu\text{l}$,分别在 0 、 4 、 10 、 16 、 22 、 30h 内进样,记录峰面积,结果去甲异波尔多定、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖、橙皮苷峰面积的RSD分别为 1.98% 、 1.25% 、 1.44% 、 1.35% 、

1.44% 。结果表明,舒肝和胃丸的供试品溶液在 30h 内基本稳定,表明该方法有良好的稳定性。

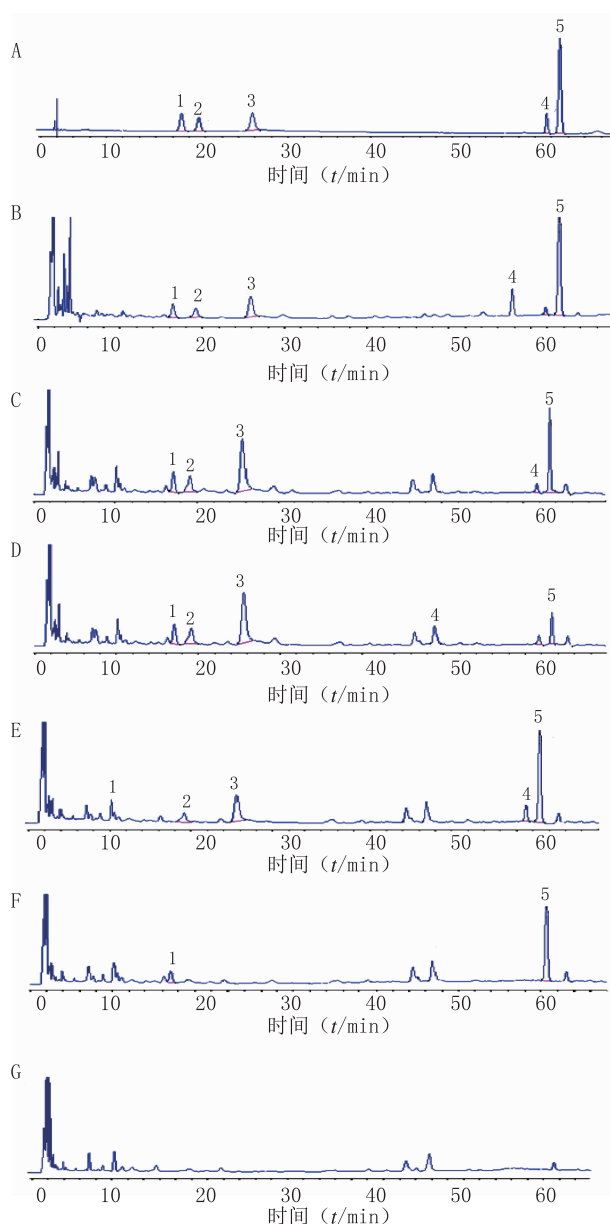


图4 舒肝和胃丸专属性 HPLC 图谱

A. 对照品溶液;B. 供试品溶液;C. 缺佛手阴性对照溶液;

D. 缺陈皮阴性对照溶液;E. 缺乌药阴性对照溶液;

F. 缺白芍阴性对照溶液;G. 缺佛手、陈皮、乌药、白芍的阴性对照溶液

1. 去甲异波尔多定(乌药);2. 芍药内酯苷(白芍);3. 芍药苷(白芍);

4. 1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖(白芍);5. 橙皮苷(佛手、陈皮)

2.2.8 加样回收率试验

取同一批号的舒肝和胃丸(批号16032993)的样品 0.275g ,精密称定,精密加入去甲异波尔多定(0.00128mg/ml)、芍药内酯苷(0.0024mg/ml)、芍药苷(0.0072mg/ml)、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖(0.00164mg/ml)、橙皮苷(0.016mg/ml)混合对照品溶液 25ml ,按上述方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件,测定其含量,分别计算

回收率,结果见表2。

件,以外标法计算,测定3个企业的水蜜丸样品的含量,结果见表3。

2.2.9 样品测定

按上述方法,制备供试品溶液,依相同色谱条

表1 5个对照品的回归方程、相关系数及线性范围

| 对照品 | 回归方程 | <i>r</i> | 线性范围/($\mu\text{g} \times 10^{-3}$) |
|----------------------|----------------------------|----------|---------------------------------------|
| 去甲异波尔多定 | $Y=4\ 021\ 461X+4\ 711$ | 0.999 5 | 3.03~60.60 |
| 芍药内酯苷 | $Y=749\ 824X+5\ 507.2$ | 1.000 0 | 10.70~214.00 |
| 芍药苷 | $Y=4\ 021\ 461X+4\ 711$ | 0.999 5 | 15.67~313.40 |
| 1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖 | $Y=1\ 523\ 944 X + 2\ 793$ | 1.000 0 | 4.26~85.20 |
| 橙皮苷 | $Y=1\ 767\ 784X-159$ | 1.000 0 | 24.00~480.00 |

表2 舒肝和胃丸加样回收率试验结果($n=6$)

| 成分 | 取样量(g) | 样品量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | 平均值(%) | RSD(%) |
|--------------------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|
| 去甲异波尔多定 | 0.275 1 | 0.030 3 | 0.032 0 | 0.062 0 | 99.18 | 98.44 | 1.84 |
| | 0.275 0 | 0.030 3 | 0.032 0 | 0.061 0 | 96.09 | | |
| | 0.274 7 | 0.030 2 | 0.032 0 | 0.062 0 | 99.32 | | |
| | 0.281 2 | 0.030 9 | 0.032 0 | 0.063 0 | 100.21 | | |
| | 0.274 7 | 0.030 2 | 0.032 0 | 0.061 0 | 96.20 | | |
| | 0.273 8 | 0.030 1 | 0.032 0 | 0.062 0 | 99.63 | | |
| 芍药内酯苷 | 0.275 1 | 0.057 8 | 0.060 0 | 0.118 0 | 100.38 | 100.99 | 1.86 |
| | 0.275 0 | 0.057 8 | 0.060 0 | 0.119 0 | 102.08 | | |
| | 0.274 7 | 0.057 7 | 0.060 0 | 0.118 0 | 100.52 | | |
| | 0.281 2 | 0.059 1 | 0.060 0 | 0.119 0 | 99.91 | | |
| | 0.274 7 | 0.057 7 | 0.060 0 | 0.117 0 | 98.86 | | |
| | 0.273 8 | 0.057 5 | 0.060 0 | 0.120 0 | 104.17 | | |
| 芍药苷 | 0.275 1 | 0.173 3 | 0.180 0 | 0.351 0 | 98.72 | 99.04 | 1.82 |
| | 0.275 0 | 0.173 3 | 0.180 0 | 0.348 0 | 97.08 | | |
| | 0.274 7 | 0.173 1 | 0.180 0 | 0.351 0 | 98.86 | | |
| | 0.281 2 | 0.177 2 | 0.180 0 | 0.353 0 | 97.69 | | |
| | 0.274 7 | 0.173 1 | 0.180 0 | 0.357 0 | 102.19 | | |
| | 0.273 8 | 0.172 5 | 0.180 0 | 0.352 0 | 99.73 | | |
| 1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖 | 0.2751 | 0.0385 | 0.041 0 | 0.080 0 | 101.19 | 100.15 | 1.98 |
| | 0.275 0 | 0.038 5 | 0.041 0 | 0.079 0 | 98.78 | | |
| | 0.274 7 | 0.038 5 | 0.041 0 | 0.081 0 | 103.76 | | |
| | 0.281 2 | 0.039 4 | 0.041 0 | 0.080 0 | 99.10 | | |
| | 0.274 7 | 0.038 5 | 0.041 0 | 0.079 0 | 98.88 | | |
| | 0.273 8 | 0.038 3 | 0.041 0 | 0.079 0 | 99.19 | | |
| 橙皮苷 | 0.275 1 | 0.277 9 | 0.290 0 | 0.574 0 | 102.12 | 101.61 | 1.82 |
| | 0.275 0 | 0.277 8 | 0.290 0 | 0.578 0 | 103.53 | | |
| | 0.274 7 | 0.277 4 | 0.290 0 | 0.574 0 | 102.26 | | |
| | 0.281 2 | 0.284 0 | 0.290 0 | 0.569 0 | 98.27 | | |
| | 0.274 7 | 0.277 4 | 0.290 0 | 0.575 0 | 102.60 | | |
| | 0.273 8 | 0.276 5 | 0.290 0 | 0.569 0 | 100.85 | | |

表3 舒肝和胃丸含量测定结果($n=3$)

| 企业(批号) | 去甲异波尔多定(mg/g) | 芍药内酯苷(mg/g) | 芍药苷(mg/g) | 1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖(mg/g) | 橙皮苷(mg/g) |
|-------------|---------------|-------------|-----------|----------------------------|-----------|
| A(16032993) | 0.11 | 0.21 | 0.63 | 0.14 | 1.01 |
| B(160303) | 0.12 | 0.31 | 0.72 | 0.18 | 1.56 |
| C(20160502) | 0.18 | 0.49 | 1.54 | 0.27 | 1.69 |

3 讨论

3.1 薄层色谱

参照药典^[1],修订了原方法中佛手的薄层鉴别方法,在此基础上又同时鉴别木香的 TLC 法,效果较好,故采用同一供试品溶液分别在日光(鉴别木香)和紫外光(鉴别佛手)下鉴别两种药材。其次,陈皮当中含有橙皮苷成分,且佛手药材中也含有少量的橙皮苷,故同时建立两者的橙皮苷的 TLC 法。

3.2 检测波长的选择

参考文献^[4-6]5种成分当中有3种成分(芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖)均为白芍药材的成分,其余2种成分(去甲异波尔定、橙皮苷),经紫外吸收光谱扫描发现最大吸收均为280 nm,考虑到两者的响应值较高,且5种成分在230 nm处吸收值相对较好,综合考虑,最终确定230 nm作为同时测定5种成分的检测波长。

3.3 提取方法及溶剂选择

按照中国药典^[1]中测定芍药苷含量的方法,以芍药苷峰面积为指标考察回流提取法和超声提取法对芍药苷的提取效率的影响,结果显示,回流与超声无明显差异,且回流后样品黏性大、杂质多,较难过滤,容易损坏色谱柱,最终选择超声提取法。分别采用不同浓度的甲醇、乙醇为溶剂提取样品,最终选取稀乙醇作为供试品溶液的提取溶剂条件。考察了供试品于15、30、45和60 min不同超声时间的提取结果。结果显示,30 min后芍药苷的相对峰面积不再增加,最终选择超声30 min作为提取方法。

3.4 流动相选择

中国药典^[1]采用的缓冲盐作为流动相,对仪器损伤较大,尝试用乙腈和0.2%磷酸水、甲醇和0.2%磷酸水、乙腈和水3种试验方法,结果显示,乙腈和0.2%磷酸水溶液的梯度洗脱的流动相最为理

想,实现了5种成分与相邻各峰达到有效分离,最终采用该方法,实现节约成本,达到简便、准确的效果。

综上所述,本研究修订了原薄层方法,并建立了“一板多测”的TLC方法和“同一供试品溶液测定多种成分”的HPLC法,具有简便、稳定可靠、准确等明显优势,中药多组分、多靶点作用机制为生产企业和检验部门更加全面的检测产品质量提供实验依据。因此作为提高后的质量标准,可以全面控制该品种的质量。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:1603.
- [2] 黄思睿,何志权,覃亮. HPLC法测定舒肝和胃丸中橙皮苷的含量[J]. 今日药学,2014,24(4):237-239.
- [3] 王祯旭. 高效液相色谱法测定舒肝和胃丸中芍药苷含量[J]. 中国药业,2017,26(3):25-27.
- [4] 李伟铭,赵月然,杨燕云,等. HPLC波长切换法同时测定白芍饮片9个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2011,31(12):2208-2212.
- [5] 冯兵,陈婷,赵瑞芝,等. HPLC测定复方昆丹胶囊中芍药内酯苷、芍药苷、二苯乙烯苷、五没食子酰葡萄糖[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):112-116.
- [6] 辛振杰,李庆国. HPLC法测定益坤宁酊中梓醇、麦角甾苷、马替诺皂苷、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷和 α -香附酮[J]. 现代药物与临床,2018,33(8):1875-1878.
- [7] 李世举,王艳旭,吴成翰,等. 白芍总苷对EAE大鼠中枢神经系统炎症浸润细胞凋亡及Bcl-2、Bax表达的影响[J]. 神经疾病与精神卫生,2014,14(5):1043.
- [8] 李世举,王艳旭,吴松鹰,等. 白芍总苷对EAE大鼠外周免疫器官及中枢神经系统NF- κ Bp65表达的影响[J]. 山西医科大学学报,2015,46(12):1188-1192.
- [9] 宋菲,杨发奋. 白芍总苷对糖尿病肾病大鼠的治疗作用及对肾组织TGF- β_1 、CTGF表达的影响[J]. 山东医药,2017,57(6):35-37.

【收稿日期】 2019-05-07 【修回日期】 2019-11-04

【本文编辑】 陈盛新