

香砂平胃丸质量控制研究

郝甜媛¹, 吴贵华², 陈常青^{3*}

1. 天津中医药大学研究生院, 天津 300193

2. 天津市药品检验所, 天津 300070

3. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 完善香砂平胃丸质量控制方法。方法 采用 TLC 法对其处方中木香、苍术、陈皮、甘草进行定性分析, 其中木香、苍术用同一种方法提取、显色且点于同一板上使实验更简易、经济; 采用 HPLC 法测定香砂平胃丸中厚朴酚、和厚朴酚的量, 并进行方法学研究。结果 TLC 鉴别方法能特征地鉴别木香、苍术、陈皮、甘草, 斑点均清晰, 阴性无干扰; 厚朴酚在 186.3~1 552.5 ng ($r=0.999\ 9$) 线性关系良好, 平均加样回收率 103.9%, RSD 为 0.35%; 和厚朴酚在 121.39~1 011.55 ng ($r=0.999\ 9$) 线性关系良好, 平均加样回收率 104.5%, RSD 为 0.28%。结论 TLC 鉴别方法简单易行; HPLC 测定方法专属性强、重现性良好, 能够准确测定香砂平胃丸中厚朴酚、和厚朴酚的量。

关键词: 香砂平胃丸; 木香; 苍术; 陈皮; 甘草; 厚朴酚; 和厚朴酚

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)02-0308-04

Research on quality control of Xiangsha Pingwei Pills

HAO Tian-yuan¹, WU Gui-hua², CHEN Chang-qing³

1. Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Key words: Xiangsha Pingwei Pills; *Aucklandiae Radix*; *Atractylodis Rhizoma*; *Citri Reticulatae Pericarpium*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; magnolol; honokiol

香砂平胃丸由苍术、陈皮、厚朴(姜制)、木香、砂仁、甘草共 6 味药材组成, 具有健胃、舒气、止痛之功效。根据《2009~2010 年度国家药品标准提高工作(中药) 科研立项综合意见单》中专家意见, 对香砂平胃丸质量标准进行了提高、完善, 起草制定了香砂平胃丸的质量标准(草案)。现行标准无薄层鉴别项目, 与现行标准《卫生部药品标准》中药成方制剂第十五册相比, 增加了木香、苍术、陈皮、甘草的薄层鉴别方法, 制定了厚朴酚、和厚朴酚的定量测定方法。

1 仪器与材料

Shimadzu LC—2010 CHT 高效液相色谱仪, 紫外检测器; Shimadzu LC—20D 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, LC solution 工作站。Phenomenex-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Diamonsil-C₁₈

色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Sepax Sappire-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。甲醇、冰醋酸(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 水为去离子水。厚朴酚(批号 110729-200411)、和厚朴酚(批号 110730-201011, 质量分数 98.4%)、橙皮苷(批号 120969-200808)对照品以及苍术(批号 120932-200405)、木香(批号 120921-200607)、陈皮(批号 110721-200613)、甘草(批号 120904-200511)对照药材均购于中国药品生物制品检定所。香砂平胃丸(批号 201003009、201003010、201004011)李时珍医药集团有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

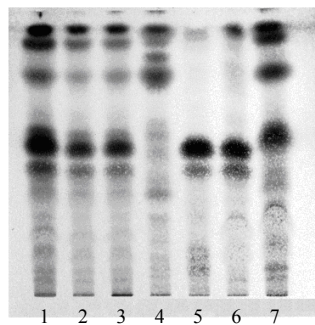
2.1.1 苍术、木香的 TLC 鉴别 取本品 5 g, 研细, 加石油醚 25 mL, 超声处理 20 min, 放冷, 滤过,

收稿日期: 2011-10-18

作者简介: 郝甜媛(1987—), 女, 天津市人, 天津中医药大学研究生。E-mail: xiaochi0629@sina.com

*通讯作者 陈常青 Tel: (022)27474913 E-mail: chencq@tjpr.com

滤渣备用, 滤液挥干, 残渣加醋酸乙酯 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。分别取苍术、木香对照药材各 1 g, 同法制成对照药材溶液。按处方配比, 分别取除苍术、木香以外的其他药味按工艺制得丸剂, 再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。照薄层色谱法^[1]试验, 吸取上述 3 种溶液各 2~4 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-丙酮 (10:3) 为展开剂, 在 27 $^{\circ}$ C、湿度 65% 条件下展开, 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。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性样品无干扰, 见图 1。结果显示 3 批样品均检出苍术、木香, 阴性样品无干扰。并对该方法进行了耐用性试验。



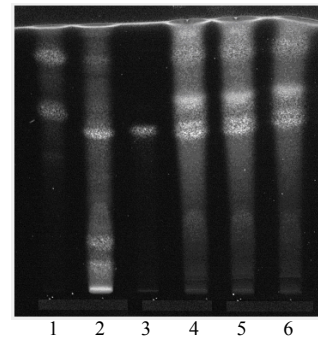
1~3-供试品 (批号 201003009、201003010、201004011) 4-苍术对照药材 5-木香对照药材 6-苍术阴性对照样品 7-木香阴性对照样品
1—3-samples (201003009, 201003010, 201004011) 4-*Atractylodes Rhizoma* reference substance 5-*Aucklandiae Radix* reference substance 6-*Atractylodes Rhizoma* negative control sample 7-*Aucklandiae Radix* negative control sample

图 1 苍术和木香的 TLC 鉴别

Fig. 1 TLC identification of *Atractylodes Rhizoma* and *Aucklandiae Radix*

2.1.2 陈皮的 TLC 鉴别 取“2.1.1”项中滤渣加乙醚 25 mL 超声处理 20 min, 滤过, 弃去乙醚液, 加甲醇 25 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 25 mL 使溶解, 用醋酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。取橙皮苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.4 mg/mL 溶液, 即得对照品溶液^[1]。取陈皮对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。按处方配比, 取除陈皮以外的其他药味按工艺制得丸剂, 再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。照薄层色谱法^[1]试验, 吸取上述 4 种溶液各 4~6 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以

醋酸乙酯-甲醇-水 (100:17:10) 为展开剂, 在 27 $^{\circ}$ C、湿度 65% 条件下展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 三氯化铝乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热数分钟。置紫外光 (365 nm) 灯下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。阴性样品无干扰, 见图 2。结果显示 3 批样品均检出陈皮、橙皮苷, 阴性样品无干扰。并对该方法进行了耐用性试验。



1-阴性对照样品 2-陈皮对照药材 3-橙皮苷对照品 4~6 供试品 (批号 201003009、201003010、201004011)

1-negative control sample 2-*Citri Reticulatae Pericarpium* reference substance 3-hesperidin reference substance 4—6-samples (201003009, 201003010, 201004011)

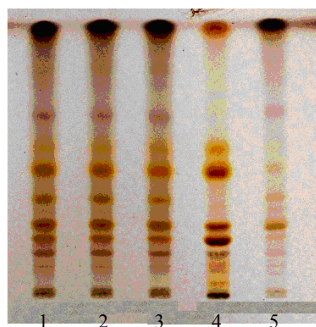
图 2 陈皮的 TLC 鉴别

Fig. 2 TLC identification of *Citri Reticulatae Pericarpium*

2.1.3 甘草的 TLC 鉴别 与陈皮鉴别使用同一供试品溶液。取甘草对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。按处方配比, 取除甘草以外的其他药味按工艺制得丸剂, 再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。照薄层色谱法^[1]试验, 吸取上述 3 种溶液各 2~4 μ L, 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水 (15:1:1:2) 为展开剂, 在 27 $^{\circ}$ C、湿度 70% 条件下展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。置紫外光 (365 nm) 灯下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性样品无干扰, 见图 3。结果显示 3 批样品均检出甘草, 阴性样品无干扰。并对该方法进行了耐用性试验。

2.2 厚朴酚、和厚朴酚的测定^[2]

香砂平胃丸处方中厚朴为主药, 参考《中国药典》2010 年版一部“厚朴”定量测定方法, 采用 HPLC 法, 以厚朴酚、和厚朴酚为定量指标, 制定



1~3-供试品(批号 201003009、201003010、201004011) 4-甘草对照药材 5-阴性对照样品

1—3-samples (201003009, 201003010, 201004011) 4-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma reference substance 5-negative control sample

图 3 甘草的 TLC 鉴别

Fig. 3 TLC identification of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

了处方的定量测定方法^[2]。

2.2.1 色谱条件 参照《中国药典》2010 年版一部厚朴定量测定方法制定本方法色谱条件。以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-水-冰醋酸(70:30:1.5)为流动相,检测波长为 294 nm,柱温 40℃,体积流量 0.8 mL/min。理论板数按厚朴酚峰计算不低于 5 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取厚朴酚、和厚朴酚适量,精密称定,加甲醇制成含厚朴酚、和厚朴酚各 50 μg/mL 的混合对照品溶液,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的样品,研细,取约 0.5 g,精密称定,精密加入 70%甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 40 min,放冷,再称定质量,用 70%甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液,摇匀,即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 按处方取除厚朴的各味药材,依法制得丸剂样品,再按供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

2.2.5 线性关系考察 取厚朴酚、和厚朴酚对照品适量,精密称定,分别加甲醇制成含厚朴酚 62.10 μg/mL 的溶液,含和厚朴酚 40.462 μg/mL 的溶液,作为对照品溶液,精密吸取上述对照品溶液各 3、5、10、15、20、25 μL,分别注入高效液相色谱仪中,按“2.2.1”色谱条件分析,测定各自峰面积,以对照品进样量(μg)为横坐标,峰面积值为纵坐标进行线性回归,得回归方程:厚朴酚 $Y=1\,891\,576.7X+20\,081.6$, $r=0.999\,9$; 和厚朴酚 $Y=2\,226\,833.7X+24\,260.3$, $r=0.999\,9$; 结果表明厚朴酚在 186.3~1 552.5 ng、和厚朴酚在 121.39~1 011.55 ng 线性关

系良好。

2.2.6 精密度试验 取同一批(批号 201003010)样品,研细,取约 0.5 g,精密称定,按照供试品溶液制备操作,按“2.2.1”色谱条件分析,连续进样 6 次,测定样品中厚朴酚、和厚朴酚的峰面积。计算得厚朴酚峰面积的 RSD 为 0.38%,和厚朴酚峰面积的 RSD 为 0.10%。

2.2.7 重现性试验 取同一批(批号 201003010)样品,共 6 份,研细,取约 0.5 g,精密称定,按照供试品溶液制备操作,按“2.2.1”色谱条件分析,测定样品中厚朴酚、和厚朴酚的量。计算得厚朴酚质量分数的 RSD 为 0.77%,和厚朴酚质量分数的 RSD 为 0.72%。

2.2.8 稳定性试验 取同一批(批号 201003010)样品,研细,取约 0.5 g,精密称定,按照供试品溶液制备操作,按“2.2.1”色谱条件分析,分别在 0、3、6、9、12、15 h 进样,测定样品中厚朴酚、和厚朴酚的峰面积,计算得厚朴酚峰面积的 RSD 为 0.44%,和厚朴酚峰面积的 RSD 为 0.28%。

2.2.9 回收率试验 取同一批(批号 201003010)样品,研细,取约 0.25 g,共 6 份,精密称定,置锥形瓶中,分别精密加入厚朴酚 70%甲醇对照品溶液(106.9 μg/mL) 10 mL,和厚朴酚 70%甲醇对照品溶液(102.8 μg/mL) 10 mL,再精密加入 70%甲醇溶液 5 mL。按照供试品溶液制备操作,制得供试品溶液,按“2.2.1”色谱条件进样分析,计算回收率,结果厚朴酚平均回收率为 103.9%,RSD 为 0.35%,和厚朴酚平均回收率为 104.5%,RSD 为 0.28%。

2.2.10 样品测定 取 3 个批号的样品,按照供试品溶液制备操作,按“2.2.1”色谱条件测定样品中厚朴酚、和厚朴酚的量。结果见表 1。

表 1 3 批样品测定结果

Table 1 Determination of three batches of samples

批 号	质量分数 / (mg·g ⁻¹)	
	厚朴酚	和厚朴酚
201003009	4.214 4	3.385 6
201003010	5.008 0	3.934 9
201004011	4.205 2	3.741 1

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

对甲醇-水(78:22、74:26、70:30)、甲醇-

水-冰醋酸(70:30:1.5)、甲醇-0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液(70:30)、乙腈-水(60:40、55:45)进行选择。以上流动相虽然都能得到较好的色谱图,但因本品含杂质多,厚朴酚、和厚朴酚色谱峰出峰时间太早,不能达到基线分离,对测定结果有影响。结果选择甲醇-水-冰醋酸(70:30:1.5)作为流动相,其效果较好,色谱峰可达到基线分离,分离度符合要求。但不同色谱柱在该流动相系统出峰的保留时间有一定差距,应做好系统适应性试验。

3.2 供试品溶液制备方法

对提取溶剂[50%、70%、100%甲醇,氯仿-甲醇(1:1)]、提取方法(超声处理、加热回流)、提取时间(30、40、60 min)和提取溶剂用量(25、50 mL)进行考察,最终确定提取方法为70%甲醇25 mL 超声提取40 min。

3.3 色谱柱的选择

对Dikma-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱, Sepax Sappire C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱和 Phenomenex-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱进行选择,测得厚朴酚、和厚朴酚的 RSD 分别为2.75%、3.69%,不同色谱柱的测定值有一定差异。

3.4 专属性考察

色谱图中阴性样品在厚朴酚、和厚朴酚色谱峰处无干扰。二极管阵列检测器从样品色谱中厚朴酚、

和厚朴酚色谱峰及对照品色谱相应的色谱峰中提取出的光谱图,光谱特征一致,色谱峰纯度为0.999 9,未检出不纯峰。

3.5 定量限度的制定

《中国药典》2010年版一部厚朴药材项下规定含厚朴酚、和厚朴酚总量不得少于1.6%。本品含厚朴0.229 g/g,理论上含厚朴酚、和厚朴酚应不少于3.7 mg/g。本品为75%乙醇提取入药,并根据目前市场上厚朴药材质量情况,转移率按质量分数理论值的70%计算,本品厚朴以厚朴酚、和厚朴酚总量计,应不得低于2.59 mg/g。表1显示,3批样品均符合规定。

3.6 定性鉴别

本研究采用TLC法对制剂中药味进行了定性鉴别,其中木香、苍术用同一种方法提取、显色点于同一板上使实验更简易、经济。在确定薄层色谱鉴别方法时,对《中国药典》2010年版一部附录VI B中提供的方法进行了改进,从样品制备、展开剂组成及比例的选择、点样量等方面,对几味药材的薄层色谱条件进行了优化,选择了最佳的试验条件具有分离度好、重复性好、专属性强的特点。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2010.
- [2] 黎阳, 刘素香, 张铁军, 等. HPLC法测定麻仁软胶囊中7种成分[J]. 中草药, 2011, 42(5): 890-892.