

以丹酚酸B为指标性成分的复方巴戟天健骨颗粒整体质量评价

严锦贤^{1,2}, 张宽^{1,2}, 倪立坚^{1,2}, 李颖^{1,2}, 郑文炜^{1,2}, 周季莹^{1,2}

¹福建中医药大学附属第二人民医院, 福建 福州

²福建省医疗机构中药制剂重点实验室, 福建 福州

收稿日期: 2024年2月19日; 录用日期: 2024年3月12日; 发布日期: 2024年3月19日

摘要

目的: 通过复方巴戟天健骨颗粒中丹酚酸B质量控制研究, 评价制剂质量。方法: 色谱柱采用Sino Chrom ODS-BP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1%磷酸水, 等度洗脱, 体积流量1.2 mL·min⁻¹, 柱温30℃, 检测波长286 nm。结果: 丹酚酸B在考察的浓度范围内线性关系良好($r = 1.000$), 线性范围为8.25~165.00 μg/mL, 平均加样回收率为99.16%, RSD为1.52%。结论: 该方法操作简便、准确、重复性好, 可为复方巴戟天健骨颗粒质量控制提供实验依据。

关键词

复方巴戟天健骨颗粒, HPLC-DAD, 丹酚酸B, 质量评价

Overall Quality Evaluation of Compound Morinda Jiangu Granules with Salvianolic Acid B as the Index Component

Jinxian Yan^{1,2}, Kuan Zhang^{1,2}, Lijian Ni^{1,2}, Ying Li^{1,2}, Wenwei Zheng^{1,2}, Jixuan Zhou^{1,2}

¹The Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian

²Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparations in Medical Institutions of Fujian Province, Fuzhou Fujian

Received: Feb. 19th, 2024; accepted: Mar. 12th, 2024; published: Mar. 19th, 2024

Abstract

Objective: To evaluate the quality of the preparation through the quality control study of salvianolic acid B in Compound Morinda Jiangu Granules. **Methods:** The chromatographic column adopted

文章引用: 严锦贤, 张宽, 倪立坚, 李颖, 郑文炜, 周季莹. 以丹酚酸B为指标性成分的复方巴戟天健骨颗粒整体质量评价[J]. 临床医学进展, 2024, 14(3): 609-615. DOI: 10.12677/acm.2024.143746

Sino Chrom ODS-BP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), and the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid water. Isocratic elution was used with a volume flow rate of 1.2 mL·min⁻¹, a column temperature of 30°C, and a detection wavelength of 286 nm. Results: Salvianolic acid B had a good linear relationship within the investigated concentration range ($r = 1.000$), the linear range was 8.25~165.00 μg/mL, the average recovery rate was 99.16%, and the RSD was 1.52%. Conclusion: This method is simple to operate, accurate and reproducible, and can provide experimental basis for quality control of Compound Morinda Jiangu Granules.

Keywords

Compound Morinda Jiangu Granules, HPLC-DAD, Salvianolic Acid B, Quality Evaluation

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

复方巴戟天健骨颗粒是源于临床验方“复方巴戟天合剂”开发制成的特色医疗机构中药制剂，临床用于治疗股骨头坏死疗效显著[1] [2] [3]。该制剂由巴戟天、丹参、三七、郁金、枸杞子、骨碎补、补骨脂、淫羊藿、续断、木瓜、党参、黄芪十二味中药组成，其中巴戟天为君药，具有补肾阳、壮筋骨之功效；丹参、三七、郁金为臣药活血化瘀；佐以骨碎补、补骨脂、淫羊藿、续断、枸杞、木瓜，增强补益肝肾、强筋壮骨、祛风除湿作用；党参、黄芪为使药，具有益气作用，“气行则血行”，“通则不痛”，诸药合用，标本兼治，共奏活血化瘀、补益肝肾、壮骨止痛之功[4] [5]。前期我们已对提取工艺进行优化，确定了最佳水提工艺参数[6]，为了更全面地体现制剂质量，在原有质量标准的基础上进行了升级研究[7]，并对包括丹酚酸 B 在内的 6 个化学成分进行了含量测定。丹酚酸 B 是丹参的主要成分，也是制剂中含量最高的成分，因此实验抽取 7 个批次的复方巴戟天健骨颗粒，以丹酚酸 B 为指标，评估制剂的整体质量。

2. 实验材料

2.1. 仪器

Dionex U3000 高效液相色谱仪 - 二极管阵列检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); SCLEAE01 超声波仪(宁波新芝生物科技股份有限公司); EX125ZH 电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司]; 超纯水制造设备(四川卓越水处理设备有限公司)。

2.2. 试药

对照品丹酚酸 B (批号 S29GB162878, 纯度 ≥ 98%)购自上海源叶生物科技有限公司, 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。7 批次复方巴戟天健骨颗粒(批号分别为 202202006、202206016、202208006、202209006、202301002、202304012、202308002; 规格为 12 g/袋)与缺丹参阴性样品均由福建中医药大学附属第二人民医院制剂中心提供。

3. 方法与结果

3.1. 色谱条件

采用 SinoChrom ODS-BP 色谱柱(4.6 × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1%磷酸水(22:78), 等度洗脱,

柱温为 30℃，流速为 1.2 mL/min，检测波长为 286 nm，进样量为 10 μL。

3.2. 溶液制备

3.2.1. 对照品溶液制备

取丹酚酸 B 对照品粉末适量，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，即得质量浓度为 1.65 mg/mL 的对照品母液，其他不同浓度的溶液由 80% 甲醇稀释得到。

3.2.2. 供试品溶液制备

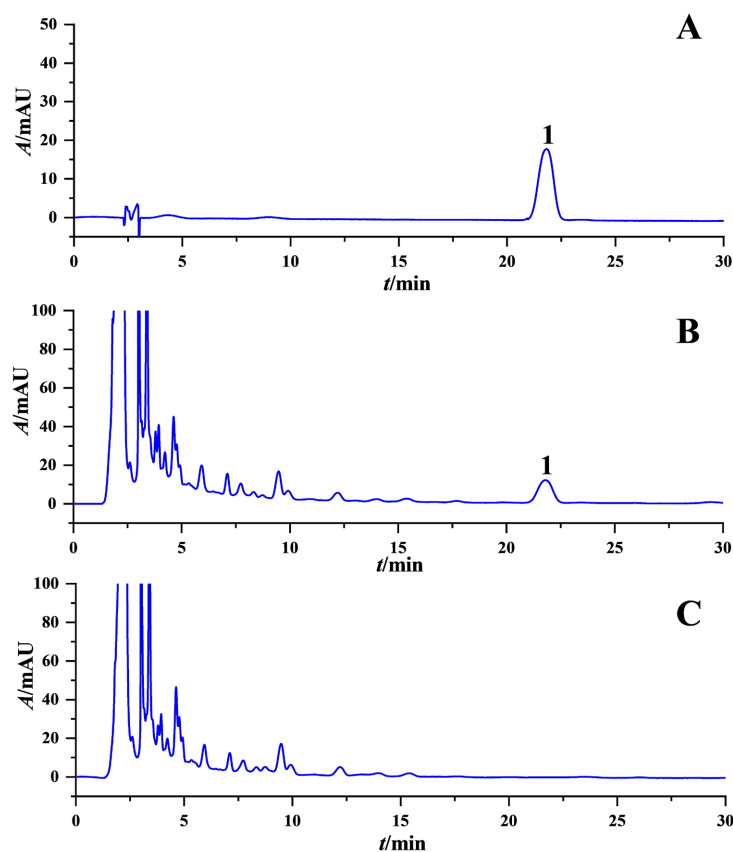
取本品约 1 g，精密称定，置于 50 mL 具塞瓶中，精密移入 80% 甲醇 10 mL，称重，超声(功率 250 W，频率 50 kHz)处理 30 min，再次称重，用 80% 甲醇补足减失重量，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得。

3.2.3. 阴性样品溶液

按本品处方工艺和比例，制成缺丹参的阴性样品，按“3.2.2”项下方法制备，即得。

3.3. 专属性试验

取丹酚酸 B 对照品、复方巴戟天健骨颗粒供试品、缺丹参阴性样品溶液，在“3.1”项的色谱条件下进样分析，结果见图 1。由此可知，各成分色谱峰保留时间一致且分离完全，阴性无干扰，符合定量分析要求，表明该方法专属性良好。



A. 对照品；B. 复方巴戟天健骨颗粒样品；C. 缺丹参阴性；1. 丹酚酸 B。

Figure 1. HPLC spectrum of compound Morinda Jiangu Granules

图 1. 复方巴戟天健骨颗粒 HPLC 图谱

3.4. 线性关系考察

分别精密吸取“3.2.1”项下的对照品溶液适量,用80%甲醇稀释成梯度浓度的对照品溶液,在“3.1”项色谱条件下进样分析。以对照品的质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得到丹酚酸B的回归方程为: $Y = 0.1099X - 0.0319$ ($r = 1.000$),线性范围为:8.25~165.00 $\mu\text{g/mL}$,可知在设定范围内线性关系良好,见图2。

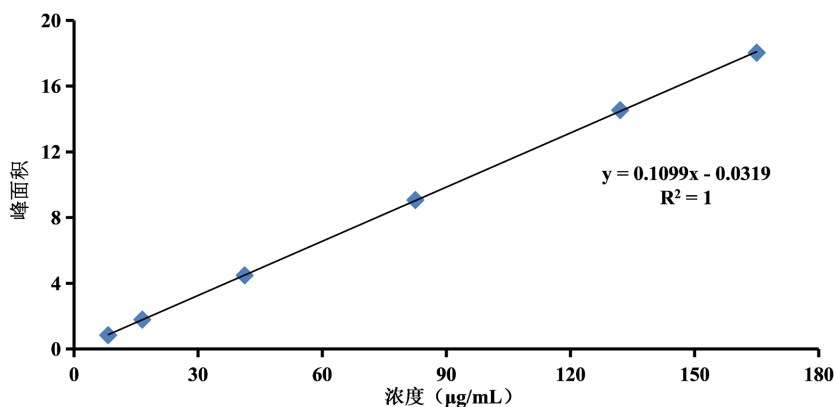


Figure 2. Salvianolic acid B standard curve chart
图2. 丹酚酸B标准曲线图

3.5. 精密度试验

精密吸取“3.2.1”项下对照品溶液适量,在“3.1”项条件下1天内连续进样6次及连续3天重复进样(3次/天)测定,记录成分的峰面积,分别计算峰面积比的RSD,日内与日间精密度的RSD分别为0.17% ($n = 6$)、0.93% ($n = 9$),表明仪器精密度良好。

3.6. 稳定性试验

取“3.2.2”项下复方巴戟天健骨颗粒供试品溶液适量,于0、2、4、8、12、24 h在“3.1”项条件下进样分析,记录各时间点丹酚酸B峰面积,计算峰面积RSD为0.31%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

3.7. 重复性试验

取同一批复方巴戟天健骨颗粒6份(批号:202308002),按“3.2.2”项下方法平行制备供试品溶液,在“3.1”项条件下进样分析,测得6份样品所含丹酚酸B的质量分数分别为0.1061%、0.1079%、0.1076%、0.1088%、0.1077%、0.1067%,计算其RSD为0.85%,表明该方法重复性良好。

3.8. 加样回收率试验

Table 1. Salvianolic acid B recovery rate test
表1. 丹酚酸B回收率试验

成分	取样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
丹酚酸B	0.5064	0.5442	0.2660	0.8042	97.75	99.16	1.52
	0.5016	0.5390	0.2660	0.8065	100.56		
	0.5012	0.5386	0.2660	0.8008	98.58		
	0.5081	0.5460	0.5320	1.0804	100.45		

续表

	0.4999	0.5372	0.5320	1.0603	98.33		
	0.4975	0.5346	0.5320	1.0621	99.16		
丹酚酸 B	0.5013	0.5387	0.7980	1.3521	101.93	99.16	1.52
	0.5035	0.5411	0.7980	1.3262	98.39		
	0.5015	0.5389	0.7980	1.3157	97.34		

精密取已知含量的复方巴戟天健骨颗粒 9 份(批号: 202308002), 每份约 0.5 g, 分为 3 组, 3 份/组, 组间按样品中已知含有量/加入量约 1:0.5, 1:1, 1:1.5 设低、中、高 3 水平。精密加入丹酚酸 B 对照品, 按“3.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“3.1”项条件下进行分析, 计算回收率, 见表 1, 结果丹酚酸 B 平均回收率为 99.16%, RSD 值为 1.52%, 表明该方法准确性高。

3.9. 样品含量测定

取 7 批次复方巴戟天健骨颗粒样品, 按“3.2.2”项下方法制备, 在“3.1”项条件下进行测定, 记录丹酚酸 B 的峰面积, 代入“3.4”项下的回归方程计算含量, 结果见表 2, 图谱见图 3。

Table 2. Content determination results of 7 batches of Compound Morinda Jiangu Granules ($n = 3$)

表 2. 7 批次复方巴戟天健骨颗粒含量测定结果($n = 3$)

批号	丹酚酸 B 含量(mg/g)	丹酚酸 B 含量(mg/袋)
202202006	0.8223	9.8680
202206016	0.8226	9.8707
202208006	0.8192	9.8300
202209006	1.0300	12.3595
202301002	0.6158	7.3896
202304012	0.9170	11.0044
202308002	1.0848	13.0180
均值	0.8731	10.4772

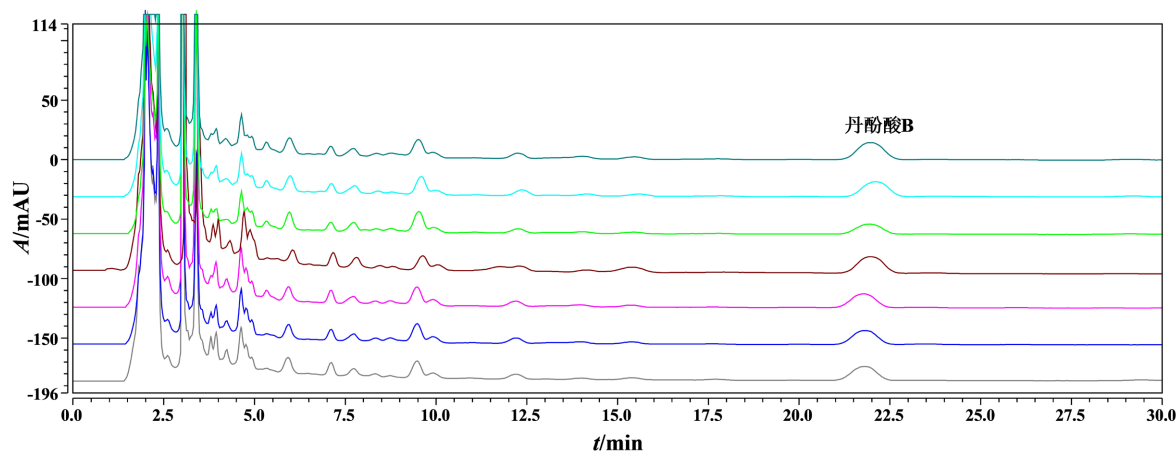


Figure 3. HPLC chromatograms of 7 batches of Compound Morinda Jiangu Granules

图 3. 7 批次复方巴戟天健骨颗粒 HPLC 图谱

4. 结果与讨论

1) 丹参是复方巴戟天健骨颗粒的主要药味, 现代药理表明, 其具有抗血小板聚集、扩张血管等作用[8]。丹参主要化学成分包括水溶性成分丹酚酸类和脂溶性成分丹参酮类, 其中丹酚酸类以丹酚酸 B 单体含量最高[9]。2020 版药典中丹参项下对包括隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 IIA 的总量以及丹酚酸 B 进行含量测定[10], 由于复方巴戟天健骨颗粒中丹参药材制备工艺为水提, 所以脂溶性成分丹参酮类提取率较低, 采用常规液相检测难度大, 且丹参配方颗粒国家标准(批准文号: YBZ-PFKL-2021035)中也只对丹酚酸 B 的含量进行规定。结合丹酚酸 B 在复方巴戟天健骨颗粒含量最高, 因此, 选用其作为指标性成分对制剂整体质量进行评估。

2) 实验对 7 批复方巴戟天健骨颗粒中的丹酚酸 B 的含量进行测定, 平均含量为 10.4772 mg/袋。不同批次间丹酚酸 B 的含量存在一定差异, 其中 202202006、202206016、202208006 批间差异较小, RSD 为 0.23%; 202301002 批次丹酚酸 B 含量最低, 202308002 含量最高。实验前期以丹酚酸 B 等三种有效成分含量和干膏得率的加权评分为综合指标, 结合正交试验研究复方巴戟天健骨颗粒的水提工艺, 确定了最佳参数[6]。生产期间, 严格按照配方投料, 并按照工艺参数进行生产配制, 考虑丹参原料药材对于制剂的整体质量影响较大。不同批次的原料药产出的浸膏存在一定差异, 对于后续辅料的加入量造成影响, 进而导致不同批次间指标性成分的差异性。既往文献报道: 粟华生等[11]对不同种植方式、生产方式、产地与种植年限的丹参药材进行研究, 发现丹酚酸 B 的含量范围分别为 4.70%~6.79%、0.46%~9.81%、4.70%~11.2%与 1.13%~4.66%, 结果表明其含量差异较大, 相关文献也报道了由于各种条件因素(如不同炮制工艺等)导致丹参药材中丹酚酸 B 含量存在差异[12] [13], 其中发现河南产区含量较高[14] [15]。提示我们在生产过程中, 尽量选择河南产区来源的中药饮片作为原料药。此外需加强对中间品的质控, 可采用 HPLC 法对中间品中的指标性成分含量进行测定, 尽可能缩小批间差异。

5. 小结

如何保证制剂均一、稳定一直是医疗机构中药制剂研究的关键, 本实验所建立的 HPLC 法可准确对复方巴戟天健骨颗粒中丹酚酸 B 进行定性和定量, 可为该制剂的质量控制和评价提供数据支持。

基金项目

项目来源: 1) 福建省医疗机构中药制剂重点实验室(福建中医药大学); 2) 福建省高校产学研合作项目(项目编号: 2023Y4010)。

参考文献

- [1] 严锦贤, 倪立坚, 宋红梅, 等. 复方巴戟天健骨颗粒对激素性股骨头坏死大鼠血液状态和骨组织形态的影响[J]. 福建中医药, 2021, 52(1): 31-32.
- [2] 孙克民, 王和鸣, 王平, 等. 复方巴戟天合剂对激素性股骨头坏死大鼠模型血液流变学和血脂的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2011, 19(5): 1-3.
- [3] 孙克民, 王和鸣, 林久茂. 复方巴戟天合剂对激素性股骨头坏死大鼠血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 117-120.
- [4] 金灵英. 中医骨伤科学的现状分析与发展趋势[J]. 中医药管理杂志, 2021, 29(8): 221-222.
- [5] 赵奎. 益气活血法对微创髌关节置换术后早期功能恢复的影响[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [6] 龚燕珍, 严锦贤, 倪立坚, 等. 复方巴戟天健骨颗粒的水提工艺优化研究[J]. 海峡药学, 2022, 34(12): 4-6.
- [7] 倪立坚, 严锦贤, 宋红梅, 等. 复方巴戟天健骨颗粒的质量标准升级研究[J]. 海峡药学, 2021, 33(4): 78-81.
- [8] 任正肖, 张颖颖. 丹酚酸 B 的化学成分及药理作用的研究进展[J]. 山东化工, 2019, 48(13): 74-75+82.

-
- [9] 纪国力, 周伟, 巴然然, 等. 双标多测法测定丹参配方颗粒中 6 个酚酸类成分[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(8): 1326-1333.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [11] 粟华生, 罗轶, 黄佳伟, 等. 不同产地与不同生产方式的丹参药材质量相似性评价研究[J/OL]. 中兽医医药杂志, 2024: 1-15. <https://doi.org/10.13823/j.cnki.jtcvm.2024.004>, 2024-02-22.
- [12] 侯晓杰, 张建锋, 李玮, 等. 不同加工方法对丹参中丹酚酸 B 和醇溶性浸出物的影响[J]. 中国现代中药, 2019, 21(2): 218-221.
- [13] 李浪, 刘文超, 钟亚楠, 等. 不同处理方式对鲜丹参丹酚酸 B 和丹参酮 IIA 含量的影响[J]. 农业科技与信息, 2021(19): 63-65.
- [14] 霍铭, 杨子华. 不同产地丹参药材中丹参酮 IIA 与丹酚酸 B 的含量测定[J]. 中国处方药, 2020, 18(10): 38-39.
- [15] 夏静, 梁惠瑜, 黄勇, 等. 不同种源丹参质量比较研究[J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(4): 5-7.