

芩连制剂中赤芍质量控制研究

张 润¹, 杜 菁¹, 易剑平¹, 杨 璇¹, 王志斌², 彭 平^{1*}
(1. 北京同仁堂科技发展股份有限公司, 北京 100079; 2. 北京同仁堂股份有限公司, 北京 100079)

摘要: **目的** 对芩连片、芩连丸、芩连胶囊中赤芍质量进行控制。**方法** 建立 3 种制剂、赤芍 UPLC 特征图谱, 以芍药苷为参照峰, 计算赤芍相对峰面积比值, 采用主成分分析、正交偏最小二乘判别分析对赤芍、白芍质量分布情况进行研究。**结果** 芍药内酯苷类成分相对峰面积值 (峰 4, VIP 值为 1.46) 是白芍、赤芍分类的主要差异因素。11 批样品中有 5 批质量表征与赤芍一致, 其他 6 批质量表征趋势与白芍相近。**结论** 在芩连制剂赤芍质量标准中, 应控制以芍药苷为参照的芍药内酯苷类成分的相对峰面积比值小于 0.10。
关键词: 芩连片; 芩连丸; 芩连胶囊; 赤芍; UPLC 特征图谱; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)01-0195-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.035

芩连制剂是由黄芩、连翘、黄连、黄柏、赤芍、甘草 6 味药材组成的中药复方制剂, 为常用清热解毒中成药^[1], 剂型包括片剂、丸剂、胶囊剂。虽然白芍、赤芍的药物基原相同, 化学成分相近^[2-3], 但在中医临床应用上前者属补虚药, 长于补血平抑肝阳; 后者属清热药, 功偏清热凉血祛瘀^[4-6], 两者在中成药生产中常出现混用现象, 从而影响其临床效果^[7-8]。

课题组前期建立了芩连制剂特征图谱及芍药苷、芍药内酯苷、1, 2, 3, 4, 6-*O*-没食子酰葡萄糖含量测定方法^[9]。研究表明, 原料赤芍是影响芩连制剂质量的主要因素之一, 有必要建立该药材质量控制标准。因此, 本实验在前期研究基础上比较赤芍、白芍饮片质量差异, 关联分析市售芩连制剂中前者质量表征状况, 建立其质量控制标准。

1 材料

1.1 仪器 Waters Acquity H-Class 超高效液相色谱仪, 配置四元溶剂管理器、PDA 检测器、在线温度控制器、样品管理器, Empower 工作站 (美国 Waters 公司); KQ-250DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); ML204、XP205 型电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); 0.22 μm 微孔滤膜 (天津津腾实验设备有限公司)。

1.2 试剂与药物 芍药内酯苷 (批号 YZ3OI0H10I115, 纯度 ≥ 98%)、1, 2, 3, 4, 6-*O*-没食子酰葡萄糖 (批号 P28M9F54631, 纯度 ≥ 99%) 对照品购自上海源叶生物科技有限公司; 芍药苷 (批号 110736-201943, 纯度 95.1%) 对照品购自中国食品药品检定研究院。乙腈为色谱纯 (德国默克公司); 甲醇为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司); 甲酸为分析纯 (天津光复精细化工研究所); 乙酸铵

为分析纯 (南开大学精细化学实验厂); 水为超纯水 (由 milli-Q 超纯水仪制备)。赤芍、白芍饮片信息分别见表 1~2, 经专家鉴定为正品。芩连片、芩连丸、芩连胶囊共 11 批, 购于不同厂家, 随机编号 s1~s11。

表 1 赤芍饮片信息

批次	来源	批号	产地
1	安国市盛辉中药饮片有限公司	1803036	内蒙
2	河北智嘉药业有限公司	170901	辽宁
3	河北汉草堂药业有限公司	151101cp138	内蒙
4	安国市聚药堂药业有限公司	1610001	内蒙
5	安国市聚药堂药业有限公司	1701001	内蒙
6	河北华都药业有限公司	18012705	辽宁
7	北京美康堂医药科技有限公司	160722001	内蒙
8	北京美康堂医药科技有限公司	160722002	内蒙
9	河北顺全隆药业有限公司	20171201	内蒙
10	河北药兴药业有限公司	170901	内蒙
11	北京同仁堂制药股份有限公司	2062071	内蒙
12	北京仟草中药饮片有限公司	150705003	内蒙
13	北京仟草中药饮片有限公司	150930010	内蒙
14	北京美康堂医药科技有限公司	160722003	内蒙
15	河北百草康神药业有限公司	1610023	内蒙

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取芍药内酯苷、芍药苷、1, 2, 3, 4, 6-*O*-没食子酰葡萄糖对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含三者各 10 μg 的溶液, 即得。

2.1.2 供试品溶液

2.1.2.1 赤芍、白芍 取赤芍或白芍饮片粉碎 (过 3 号筛), 精密称取 0.25 g, 置于 100 mL 锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 回流提取 1.5 h, 放冷

收稿日期: 2021-03-25
作者简介: 张 润 (1988—), 女, 硕士, 中级工程师, 从事中药分析研究。Tel: 13167352058, E-mail: zhangrun0520@126.com
* 通信作者: 彭 平 (1988—), 女, 博士, 高级工程师, 从事中药复方质量标准研究。Tel: 15210647038, E-mail: pengping2177@126.com

表 2 白芍饮片信息

批次	来源	批号	产地
1	江西康庆堂中药饮片有限公司	20170101	安徽
2	北京美康堂医药科技有限公司	150716001	安徽
3	北京美康堂医药科技有限公司	160815004	安徽
4	北京美康堂医药科技有限公司	170201005	安徽
5	安国市聚药堂药业有限公司	1611001	安徽
6	安国市聚药堂药业有限公司	1701002	安徽
7	河北华都药业有限公司	16122006	安徽
8	北京金崇光药业有限公司	1608059	安徽
9	安徽惠隆中药饮片有限公司	20170101	安徽
10	河北楚风中药饮片有限公司	B702051	浙江
11	北京仟草中药饮片有限公司	161203008	安徽
12	河北博圣药业有限公司	20150917	安徽
13	河北光明饮片有限公司	20150915	安徽
14	河北亚宝药业有限公司	20150912	安徽

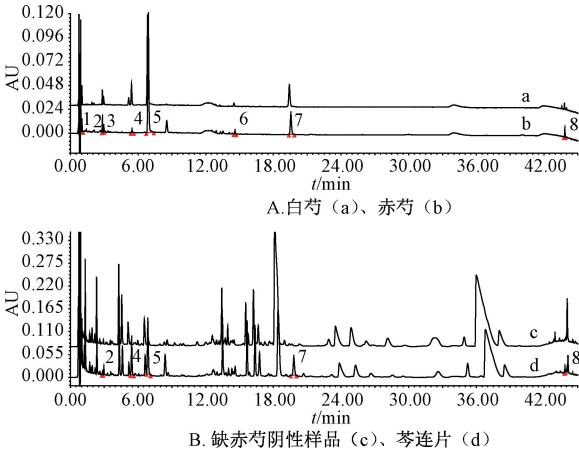
至室温，75% 甲醇补足减失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.1.2.2 芍药制剂 取装量差异项下芍药制剂成品约 10 g，磨成细粉，取约 0.5 g，精密称定，置于具塞三角瓶中，精密加入 70% 甲醇 25 mL，密塞，称定质量，加热回流 1.5 h，放冷，70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.2 UPLC 特征图谱建立

2.2.1 色谱条件 Waters CORTECS T3 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.6 μm）；流动相乙腈（含 0.02% 甲酸）（A）-（10 mmol/L 乙酸铵-0.09% 甲酸缓冲液）（B），梯度洗脱（0~10 min，10%~12% A；10~11 min，12%~15% A；11~18 min，15%~16% A；18~32 min，16% A；32~35 min，16%~19% A；35~40 min，19%~21% A；40~45 min，21%~50% A；45~48 min，50%~90% A；48~52 min，90% A；52~55 min，90%~10% A；55~60 min，10% A）；体积流量 0.3 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 230 nm，色谱图见图 1。

2.2.2 方法学考察 建立 15 批赤芍、14 批白芍的 UPLC 特征图谱，选择 8 个共有峰作为特征峰，并指认出其中 3



4. 芍药内酯苷 5. 芍药苷 7. 1, 2, 3, 4, 6-O-没食子酰葡萄糖

图 1 各成分 UPLC 特征图谱

个，分别为峰 4（芍药内酯苷）、峰 5（芍药苷）、峰 7（1, 2, 3, 4, 6-O-没食子酰葡萄糖），再以峰 5（芍药苷）为参照，测得峰 1~4、6~8 相对保留时间分别为 0.15、0.41、0.43、0.79、2.12、2.86、6.38。精密度试验结果表明，各特征峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积 RSD 均小于 4.5%；稳定性试验结果表明，24 h 内各特征峰相对保留时间 RSD 均小于 1.3%，相对峰面积 RSD 均小于 4.9%；重复性试验结果表明，各特征峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积 RSD 均小于 8.5%，表明该方法可靠。

2.2.3 色谱峰指认 取芍药制剂、缺赤芍阴性样品适量，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，发现赤芍特征峰有 5 个，分别为峰 2、峰 4（芍药内酯苷）、峰 5（芍药苷）、峰 7（1, 2, 3, 4, 6-O-没食子酰葡萄糖）、峰 8，并且无其他药味色谱峰干扰。

2.3 指标测定

2.3.1 相对峰面积 以芍药苷为参照，测定 15 批赤芍、14 批白芍 UPLC 特征图谱中 8 个特征峰的相对峰面积，结果见表 3~4。

表 3 赤芍 UPLC 特征图谱相对峰面积

编号	相对峰面积							
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
1	0.020 4	0.044 2	0.022 3	0.017 3	1.000 0	0.024 3	0.180 7	0.036 6
2	0.058 4	0.020 8	0.042 7	0.020 1	1.000 0	0.048 1	0.252 5	0.031 1
3	0.010 5	0.013 4	0.059 4	0.008 3	1.000 0	0.018 3	0.059 1	0.031 0
4	0.023 2	0.057 2	0.021 9	0.017 1	1.000 0	0.018 5	0.216 1	0.029 7
5	0.029 2	0.026 6	0.022 8	0.013 3	1.000 0	0.027 1	0.154 5	0.040 8
6	0.011 6	0.012 9	0.093 9	0.018 7	1.000 0	0.024 9	0.074 1	0.041 2
7	0.044 8	0.033 1	0.039 3	0.020 6	1.000 0	0.036 5	0.247 4	0.026 5
8	0.041 6	0.028 3	0.034 9	0.019 4	1.000 0	0.038 9	0.245 9	0.024 7
9	0.023 4	0.034 8	0.009 8	0.016 9	1.000 0	0.018 8	0.177 1	0.040 7
10	0.031 3	0.051 6	0.011 9	0.014 6	1.000 0	0.019 1	0.249 2	0.025 1
11	0.036 1	0.028 9	0.089 1	0.023 3	1.000 0	0.042 2	0.246 3	0.036 0
12	0.048 5	0.016 3	0.032 2	0.020 4	1.000 0	0.033 9	0.200 1	0.023 5
13	0.030 9	0.034 6	0.030 0	0.022 8	1.000 0	0.033 8	0.221 1	0.028 2
14	0.040 7	0.028 2	0.047 8	0.016 2	1.000 0	0.037 9	0.229 9	0.021 3
15	0.040 1	0.027 1	0.054 0	0.020 4	1.000 0	0.044 4	0.221 2	0.034 6

表 4 白芍 UPLC 特征图谱相对峰面积

编号	相对峰面积							
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
1	0.061 2	0.076 5	0.036 3	0.254 4	1.000 0	0.035 8	0.335 8	0.036 5
2	0.054 6	0.075 7	0.034 7	0.180 8	1.000 0	0.032 2	0.303 8	0.033 1
3	0.055 0	0.073 0	0.036 7	0.188 6	1.000 0	0.029 8	0.277 1	0.039 1
4	0.052 7	0.072 8	0.032 0	0.203 0	1.000 0	0.031 3	0.290 6	0.034 1
5	0.066 0	0.064 0	0.024 9	0.138 5	1.000 0	0.032 1	0.289 1	0.032 8
6	0.070 4	0.049 4	0.035 5	0.199 2	1.000 0	0.035 7	0.308 8	0.035 9
7	0.063 7	0.082 6	0.034 4	0.184 3	1.000 0	0.032 8	0.341 0	0.039 9
8	0.069 6	0.051 2	0.027 8	0.165 9	1.000 0	0.038 0	0.284 1	0.029 1
9	0.054 8	0.090 4	0.037 1	0.188 0	1.000 0	0.019 7	0.261 0	0.040 1
10	0.081 5	0.100 5	0.035 5	0.202 3	1.000 0	0.044 0	0.413 2	0.046 5
11	0.054 9	0.090 0	0.037 3	0.185 7	1.000 0	0.021 6	0.254 3	0.040 2
12	0.071 6	0.064 2	0.026 5	0.173 5	1.000 0	0.028 6	0.260 1	0.034 0
13	0.065 7	0.100 4	0.039 8	0.194 0	1.000 0	0.037 6	0.363 0	0.043 0
14	0.053 9	0.091 3	0.031 0	0.166 0	1.000 0	0.028 2	0.315 5	0.039 6

2.3.2 指标成分含量 建立 11 批芩连制剂的 UPLC 特征图谱，以芍药苷为参照，测定 5 个特征峰相对峰面积，外标法计算芍药内酯苷、芍药苷、1，2，3，4，6-*O*-没食子酰葡萄糖含量，结果见表 5，可知三者差异较大。

表 5 各指标成分含量测定结果

编号	含量/(mg·g ⁻¹)			相对峰面积				
	芍药内酯苷	芍药苷	1,2,3,4,6- <i>O</i> -没食子酰葡萄糖	峰 2	峰 4	峰 5	峰 7	峰 8
s1	0.27	17.7	1.67	0.024 2	0.015 7	1.000 0	0.095 4	0.033 2
s2	0.26	15.4	1.50	0.023 8	0.016 9	1.000 0	0.096 8	0.033 7
s3	0.13	14.9	0.22	0.016 1	0.014 6	1.000 0	0.022 8	0.043 1
s4	1.03	3.33	0.81	0.023 2	0.532 1	1.000 0	0.369 6	0.068 6
s5	0.66	3.02	0.54	0.014 0	0.380 4	1.000 0	0.272 0	0.068 4
s6	2.00	8.43	2.71	0.055 5	0.410 7	1.000 0	0.488 2	0.047 7
s7	4.94	11.0	3.63	0.020 1	0.775 6	1.000 0	0.500 3	0.052 3
s8	2.57	8.84	2.19	0.019 0	0.502 5	1.000 0	0.376 7	0.034 8
s9	0.32	16.5	0.67	0.036 7	0.029 4	1.000 0	0.099 7	0.051 2
s10	0.20	11.8	0.77	0.016 0	0.033 0	1.000 0	0.061 6	0.050 2
s11	4.71	10.1	3.90	0.036 7	0.806 4	1.000 0	0.587 2	0.069 6

2.4 质量表征分析

2.4.1 饮片 采用 SIMCA13.0 软件，以赤芍、白芍 UPLC 特征图谱中 8 个特征峰的相对峰面积为指标进行主成分分析、正交偏最小二乘判别分析，结果见图 2，可知 2 种饮片质量差异明显，以 Y 轴为界限，前者主要分布在第三、四象限，后者主要分布在第一、二象限。图 3 显示，峰 4（芍药内酯苷，VIP 值为 1.46）、峰 2（VIP 值为 1.28）、峰 1（VIP 值为 1.20）、峰 7（1，2，3，4，6-*O*-没食子酰葡萄糖，VIP 值为 1.08）、峰 8（VIP 值为 0.71）是赤芍、白芍质量差异主要成分，其中 VIP 值最大的峰 4 相对峰面积分别为 0.008 3~0.023 3、0.138 5~0.254 4。

2.4.2 芩连制剂 采用 SIMCA13.0 软件，以来源于赤芍的 5 个特征峰相对峰面积为指标，结合 15 批赤芍、14 批白芍相关数据进行主成分分析、正交偏最小二乘判别分析，结果见图 4。由此可知，2 种饮片质量分布与 8 个特征峰的分布聚类趋势一致，但聚类差异距离缩短，质量分界 Y 轴沿逆时针方向偏转，取离 2 种饮片质量最近 2 个点的中点与原点作质量分界线 Y1，可知 s1~s3、s9、s10 样品中赤芍质

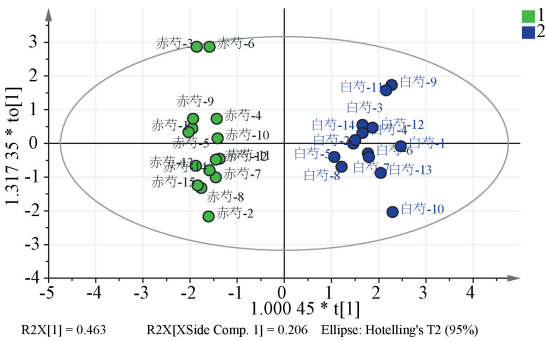


图 2 赤芍、白芍 8 个特征峰的质量分布散点图

量分布与饮片重合；s4~s8、s11 样品中赤芍质量分布于质量分界 Y1 的右侧，与白芍质量相近，但均沿 X 轴向偏第二象限分散。

3 讨论

本实验发现，以芍药苷为参照的芍药内酯苷类成分相对含量差异（峰 4，VIP 值为 1.46）是白芍、赤芍分类的主要差异因素；15 批赤芍、14 批白芍中其相对峰面积比值

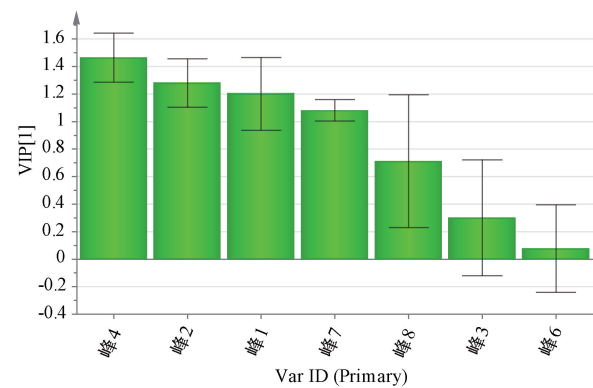


图 3 赤芍、白芍质量因素的 VIP 值

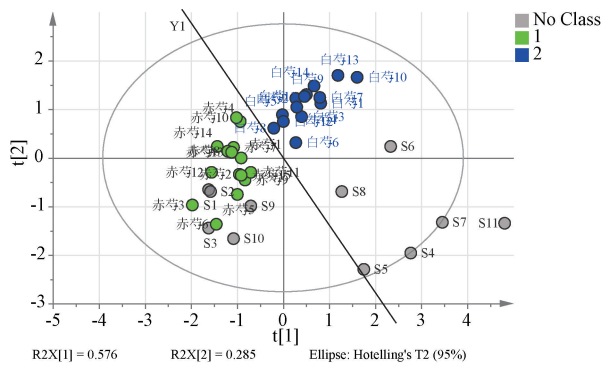


图 4 赤芍、白芍、芍药制剂质量分布散点图

范围分别为 0.008 3~0.023 3、0.138 5~0.254 4，即前者应小于 0.10。后期验证试验分别采用赤芍、白芍制备芍药制剂模拟剂，发现两者特征峰的相对峰面积比值与投料饮片一致，呈现质量特征的一致性传递，保证了分析结果的准确性。

另外，11 批芍药制剂中有 5 批（s1~s3、s9~s10）质量表征与赤芍一致，其他 6 批（s4~s8、s11）质量表征趋势与白芍饮片相近。虽然赤芍相关指标性成分含量差异较大，但其影响因素复杂，不仅与药材质量相关，也与芍药

剂中其他处方药味的提取出膏率、制剂工艺差异有关联。赤芍、白芍为同基原植物经不同加工处理方法所得的不同药材^[10-11]，两者主要化学成分一致，但在复方制剂中失去原有外观、显微鉴别特征，导致在中成药生产投料过程常出现混用、替代投料等情况。因此，有必要提高芍药制剂中赤芍质量控制标准，即以芍药苷为参照的芍药内酯苷成分相对峰面积比值小于 0.10，以期保障其临床疗效。

参考文献：

[1] 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，2020：974-975.

[2] 王秋玲. 赤芍与白芍质量差异及其形成机制研究 [D]. 北京：北京中医药大学，2012.

[3] 赵佳琛，翁倩倩，张悦，等. 经典名方中芍药类药材的本草考证 [J]. 中国中药杂志，2019，44(24)：5496-5502.

[4] 杨柳，许舜军，吴金雄，等. 白芍、赤芍的比较研究概况 [J]. 中药新药与临床药理，2011，22(5)：577-580.

[5] 冀兰鑫，黄浩，李长志，等. 赤芍药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究，2010，33(3)：233-236.

[6] 陈建彬. 控制芍药在复方中功效发挥方向的诸因素研究 [D]. 成都：成都中医药大学，2006.

[7] 陈林，刘友平，向楚兵，等. 芍药的分化及其应用的探讨 [J]. 时珍国医国药，2010，21(4)：963-964.

[8] 张建军，李伟，王丽丽，等. 赤芍和白芍品种、功效及临床应用述评 [J]. 中国中药杂志，2013，38(20)：3595-3601.

[9] 彭平，熊少哲，张蓓，等. 基于全方特征图谱质量表征的芍药制剂质量评价研究 [J]. 中草药，2021，52(5)：1312-1322.

[10] 阮金兰，赵钟祥，曾庆忠，等. 赤芍化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中国药理学通报，2003，19(9)：965-970.

[11] 王秋玲，王文全，魏胜利，等. 不同加工方法对栽培和野生芍药中 7 种化学成分的影响研究 [J]. 中国中药杂志，2012，37(7)：920-924.