

[4] 原永芳,李修禄,柳正良,等.超临界流体萃取法及高效液相色谱法分析延胡索中延胡索乙素的含量[J].药学学报,1996,31(4):282-286

## 补血当归调经合剂质量标准研究

欧国灯<sup>1</sup>, 杨立伟<sup>1</sup>, 蒋忠军<sup>1</sup>, 房志坚<sup>2</sup>, 周洪波<sup>2</sup>, 肖树雄<sup>1\*</sup>  
(1.广东省药品检验所,广东 广州 510180; 2.广东药学院,广东 广州 510006)

关键词:补血当归调经合剂;阿魏酸;HPLC; TLC

中图分类号:R927.2

文献标识码:B

文章编号:1001-1528(2008)08附 1-02

补血当归调经合剂是由当归、川芎、黄芪等中药加工而制成的合剂,具有滋补气血的作用。用于治疗头晕,身体衰弱,妇女月经不调,产后血虚体弱,贫血<sup>[1]</sup>。为控制产品质量,本实验建立了当归、川芎、黄芪的薄层色谱鉴别,对方中的君药,制定了高效液相色谱测定阿魏酸含量的方法<sup>[2,3]</sup>。

### 1 仪器与试剂

Waters 2695/2996色谱仪(Empower色谱工作站);Millipore纯水器;乙腈为色谱纯(Merck公司,德国),甲醇为分析纯(广州化学试剂厂);水为Millipore去离子水;当归对照药材(批号:120927-200512);川芎对照药材(批号:120918-200608);黄芪甲苷对照品(批号:0781-200210),阿魏酸对照品(批号:0773-9910),均由中国药品生物制品检定所提供;补血当归调经合剂:广东邦民制药有限公司(每盒装120 mL,批号为061201、061202、061203)、广东万年青制药有限公司(每盒装100 mL,批号为061101、061102、061103、061104、061105)。

### 2 薄层色谱鉴别

#### 2.1 当归、川芎

取本品20 mL,加乙醚30 mL时时振摇30 min,分取乙醚液,蒸干,残渣加醋酸乙酯1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取当归对照药材0.5 g,加乙醚20 mL,超声处理10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯1 mL使溶解,作对照药材溶液。另取川芎对照药材0.5 g,加乙醚20 mL,超声处理10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯1 mL使溶解,作对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录B)试验,吸取上述溶液各2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90)醋酸乙酯(8:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对

照无干扰。

#### 2.2 黄芪

取本品30 mL,用水饱和的正丁醇振摇提取两次,每次15 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤2次,每次10 mL,再用正丁醇饱和的水洗3次,每次20 mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每1 mL含1 mg溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录B)试验,吸取上述溶液各5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-醋酸乙酯(7:3:0.5)为展开剂,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,在对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。

### 3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱:Dikma Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸(19:81);流速:1.0 mL/min;柱温:40 $^{\circ}$ C;检测波长:324 nm;进样量:10  $\mu$ L。

#### 3.2 溶液制备

3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品适量,加甲醇制成每1 mL含阿魏酸0.05 mg的溶液,作为对照品溶液。

3.2.2 供试品溶液的制备 取本品5 mL,用微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)滤过,取续滤液,即得。

3.2.3 阴性对照溶液的制备 考虑到当归、川芎中均含有阿魏酸,因此取处方量中除当归、川芎以外的各味药材,按补血当归调经合剂制备工艺制成阴性对照溶液(缺当归、川芎)。

#### 3.3 系统适用性试验

取上述阴性、对照品和供试品溶液,照“3.1项下的色谱条件注入液相色谱仪,记录色谱图,见图1。从图中可以

收稿日期:2007-11-22

基金项目:广州市科技局科技攻关资助项目(2006Z3-E5181)。

作者简介:欧国灯(1966-),男,副主任中药师,从事药品检验和中成药质量标准研究,电话:020-81079652, E-mail: ouguodeng@gdda.gov.cn

\*通讯作者:肖树雄,020-81886161, E-mail: stxsx@21cn.com。

看出阴性无干扰,待测峰与其他峰分离度良好。理论板数按阿魏酸峰计算,应不低于 5 000。

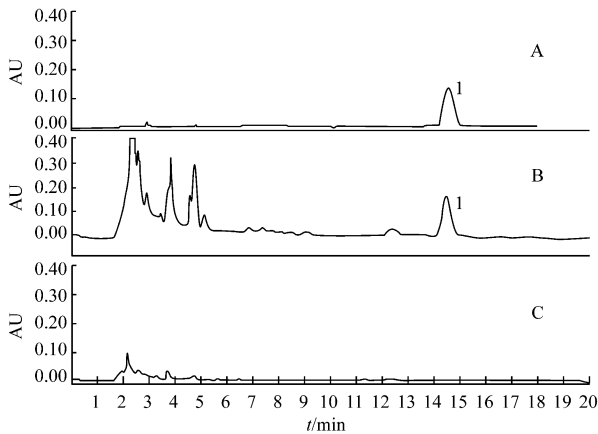


图 1 阿魏酸对照品,供试品和阴性样品色谱图  
A 对照品 B 供试品 C 阴性样品 1 阿魏酸

### 3.4 方法学考察

3.4.1 线性关系考察 取对照品溶液,分别进样 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25  $\mu\text{L}$ ,记录色谱图,以阿魏酸的进样量 ( $\mu\text{g}$ )为横坐标,以峰面积为纵坐标,得回归方程为:  $Y = 5.86 \times 10^6 X + 4.39 \times 10^4$ ;  $R = 0.9999$  ( $n = 7$ ),结果表明阿魏酸进样量在 0.05 ~ 1.25  $\mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

3.4.2 精密度试验 取同一供试品溶液,连续进样 6次(每次 10  $\mu\text{L}$ ),按上述色谱条件测定峰面积。结果峰面积的  $RSD$  为 1.03% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

3.4.3 中间精密度试验 取样品(批号 061101)由 3个不同操作人员分别测定阿魏酸含量,结果测得阿魏酸平均含量为 0.06063  $\text{mg/mL}$ ,  $RSD$  值为 1.25% ( $n = 6$ )。

3.4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 10, 12 h依次进样,阿魏酸峰面积的  $RSD$  为 0.45% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液在 12 h内稳定。

3.4.5 重复性试验 取同一批样品(批号为 061101),按“供试品溶液的制备”方法平行制备 6份供试品溶液,并测定,结果测得阿魏酸的平均含量为 0.06095  $\text{mg/mL}$ ,  $RSD$  值为 1.79% ( $n = 6$ )。

3.4.6 加样回收试验 精密量取已知含量的样品(批号为 061101)6份,每份 5 mL,至 10 mL量瓶中,依次分别添加阿魏酸对照品溶液(0.0542  $\text{mg/mL}$ )5 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按上述色谱条件测定,计算回收率。结果阿魏酸的平均回收率为 98.39%,  $RSD$  值为 2.22% ( $n = 6$ )。见表 1。

3.4.7 样品测定 取补血当归调经合剂样品共八批,按供试品溶液制备方法制备样品,在上述色谱条件下进行测定、分析。结果见表 2。

表 1 回收率试验结果 ( $n = 6$ )

取样量 /mL	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	$RSD$ /%
5	0.30475	0.271	0.5656	96.25	98.39	2.22
5	0.30475	0.271	0.5769	100.42		
5	0.30475	0.271	0.5776	100.68		
5	0.30475	0.271	0.5753	99.83		
5	0.30475	0.271	0.5642	95.74		
5	0.30475	0.271	0.5688	97.44		

表 2 样品测定结果

批号	测得值 / (mg/mL)	平均值 / (mg/mL)
061201	0.04699	0.0473
	0.04756	
061202	0.04618	0.0454
	0.04458	
061203	0.04329	0.0440
	0.04468	
061101	0.06063	0.0608
	0.06095	
061102	0.06380	0.0644
	0.06497	
061103	0.06613	0.0657
	0.06519	
061104	0.06549	0.0661
	0.06668	
061105	0.06599	0.0658
	0.06561	

## 4 讨论

4.1 当归一般用阿魏酸作为指标进行含量控制<sup>[2,3]</sup>,但是本处方中的川芎药材也含有此成分,因此本研究采用当归、川芎双阴性进行专属性研究。

4.2 利用二极管激光阵列检测器测得了阿魏酸对照品色谱峰的紫外吸收光谱图,结果在 324 nm 波长处有最大吸收,故选择 324 nm 做为检测波长。

4.3 本试验建立了高效液相色谱法测定补血当归调经合剂中阿魏酸含量方法,并验证了方法的可行性,表明灵敏度、重复性和精密度均较好,为补血当归调经合剂的质量控制提供了检测方法。

### 参考文献:

- [1] 中国药典 2005年版一部[S]. 2005: 89.
- [2] 顾民,张亮,张正行,等. HPLC测定逍遥散及当归中阿魏酸的含量[J]. 中成药, 2000, 22(5): 342.
- [3] 张振秋,刁秀兰,袁昌鲁,等. HPLC法测定痛经片中阿魏酸的含量[J]. 中草药, 2000, 31(10): 743.