

复方当归胶囊所用药材的鉴定及阿魏酸的测定

刘海燕, 曹 鹏

(河北省唐山市第二医院, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 建立复方当归胶囊的质量标准。方法 采用 TLC方法定性鉴别复方当归胶囊中的当归、三七、冰片, 采用 HPLC 法测定复方当归胶囊中阿魏酸的含量。色谱柱为 Kromasil C₁₈柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 甲醇 - 0.1% 磷酸溶液 (30: 70) 为流动相, 流速 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长 320 nm。进样量 20 μl。结果 阿魏酸 2.404~ 12.020 μg·ml⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 100.81%。结论 所建方法操作简便、可靠、重复性好、专属性强, 可作为复方当归胶囊的质控方法。

关键词: 复方当归胶囊; 阿魏酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2008) 04- 0488- 02

Identification of crude drug and determination of ferulic acid for Compound *Angelicae sinensis* capsule

LIU Hai- yan, CAO Peng

(The Second Tangshan Hospital, Tangshan 063000, China)

Abstract **OBJECTIVE** To set up the quality standard of Compound *Angelicae sinensis* capsules **METHODS** Radix *Angelicae Sinensis*, Radix *EtRhizoma Notoginseng*, *Borneolum Syntheticum* were determined by TLC. An HPLC method was established for determination of Ferulic Acid in Compound *Angelicae sinensis* capsules The chromatographic column was Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), UV detection wavelength was 320 nm, a mixture of 0.1% phosphate- water and methanol (70: 30) was used as mobile phase, and the flow rate was 1 ml·min⁻¹. **RESULTS** The calibration curve of ferulic acid was linear over the range of 2.404- 12.020 μg·ml⁻¹ and the average recovery was 100.81%. **CONCLUSION** This method is fast, reliable and accurate

Key words Compound *Angelicae sinensis* capsules; Ferulic acid; HPLC

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006- 0103(2008) 04- 0488- 02

复方当归胶囊由当归、三七、乳香、没药、冰片等七味药材组成。具有活血散瘀、消肿止痛的功效。当归为该制剂主药, 其中, 阿魏酸是当归的主要有效成分^[1]。当归能增加心肌血液供给, 降低心肌耗氧量, 降低血管阻力, 增加循环血流量, 并有抗心率失常、抑制血小板聚集的作用。测定处方中的有效成分阿魏酸的含量对临床合理用药具有指导意义。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪包括 N2000 工作站 (日本岛津)。阿魏酸对照品 (批号: 0773- 9910)、当归对照药材 (批号: 120511- 200405)、三七对照药材 (批号: 120106- 200401)、冰片对照品 (批号: 110743- 200303) (中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯; 其余试剂为分析纯; 水为纯化水。

1.2 薄层鉴别

1.2.1 当归的鉴别 取本品 6 g 加 40 ml 乙醚, 超声处理 10 min 过滤, 药渣备用, 滤液挥去乙醚, 残渣

加 2 ml 乙醇使溶解, 过滤, 滤液作为供试品溶液。另取 1 g 当归对照药材, 加 20 ml 乙醚, 同法制成对照药材、阴性药材溶液。照《中国药典》2005 年版附录 VIB 薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 2 μl 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 - 乙酸乙酯 (9: 1) 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的位置上, 显相同的亮蓝色荧光主斑点 (图 1A)。

1.2.2 三七的鉴别 取鉴别^[1]项下乙醚提取后的药渣, 挥尽乙醚, 加 30 ml 甲醇, 超声处理 15 min 过滤, 滤液蒸干, 残渣加 10 ml 水使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 (15 ml × 2), 合并正丁醇液, 用水洗涤 (10 ml × 2), 正丁醇液蒸干, 残渣加 2 ml 甲醇使溶解, 作为供试品溶液。另取 1 g 三七对照药材, 加 30 ml 甲醇, 制成对照药材溶液。同法制备阴性药材溶液。照《中国药典》2005 年版附录 VIB 薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 2 μl 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇 - 乙酸乙酯 - 水 (4: 1: 5)

的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105℃ 加热数分钟, 分别置日光及紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 日光下显相同颜色的斑点; 紫外光下显相同颜色的荧光主斑点 (图 1B)。

1.2.3 冰片的鉴别 取 1 g 样品, 加 15 ml 石油醚 (30℃ ~ 60℃), 超声处理 2 ~ 3 min, 过滤, 滤液挥散至 1 ml 作为供试品溶液。另取冰片对照品, 加石油醚 (30℃ ~ 60℃) 制成 2 mg·ml⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。同法制备阴性药材溶液。照《中国药典》2005 年版附录 VIB 薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 2 μl 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30℃ ~ 60℃) - 乙酸乙酯 (19: 2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105℃ 加热数分钟。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 (图 1C)。

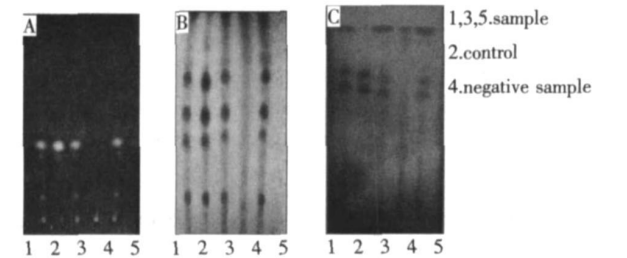


图 1 当归 (A)、三七 (B) 和冰片 (C) 供试品溶液和对照品溶液的色谱图

Fig 1 TLC chromatograms of Radix Angelicae sinensis solution (A), Radix Rhizoma notoginseng solution (B) and borneol solution (C)

1.3 阿魏酸的测定

1.3.1 溶液的配制 精密称取 6.01 mg 阿魏酸对照品至 25 ml 量瓶中, 加流动相定容, 得 24.04 μg·ml⁻¹ 的贮备液。精密量取 3 ml 至 10 ml 量瓶中, 加流动相定容, 0.45 μm 滤膜过滤, 得对照品溶液。取 10 粒样品的内容物, 研细, 取 1 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 15 ml 流动相, 密塞, 称定重量, 超声处理 (160 W, 50 kHz) 60 min, 放冷, 再称定重量, 用流动相补足减失的重量, 摇匀, 离心, 分取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液。

1.3.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱为 BDS Hypersil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 甲醇 - 0.1% 磷酸溶液 (30: 70) 为流动相, 流速 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长 320 nm。进样量 20 μl。理论板数按阿魏酸峰计算应不低于 4 × 10³。阿魏酸对照品、样品、阴性样品的色谱图见图 2。在此色谱条件下, 阿魏酸峰分离良好, 其他组分不干扰测定。

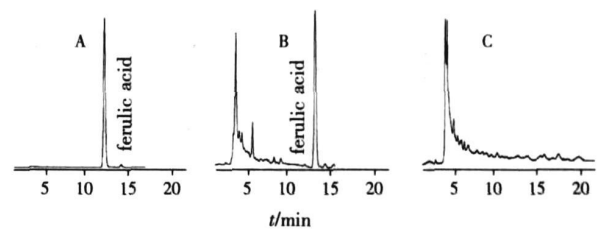


图 2 对照品 (A)、样品 (B) 和阴性样品 (C) 溶液的 HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of control solution (A), sample solution (B) and blank sample solution (C)

1.3.3 线性关系的考察 分别精密吸取 1, 2, 3, 4, 5 ml 对照品贮备液, 置 10 ml 量瓶中, 加流动相定容, 分别吸取上述溶液 20 μl 进样, 在 “1.3.2” 项条件下进行分析。以峰面积对浓度进行回归分析, 得回归方程为: $Y = 1.401 \times 10^7 X + 5.692 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)。实验表明, 阿魏酸 2.404 ~ 12.020 μg·ml⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系。

1.3.4 精密度试验 在 “1.3.2” 项条件下, 取浓度为 7.212 μg·ml⁻¹ 的对照品溶液, 连续进样 5 次。其含量测定结果的 $RSD = 0.42\%$ 。

1.3.5 稳定性试验 取供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 分别进样 20 μl 测得阿魏酸含量的 $RSD = 0.32\%$ 。结果表明, 样品溶液在 24 h 内含量稳定。

1.3.6 重复性试验 取同一批次的供试品 5 份, 分别按 “1.3.1” “1.3.2” 项方法操作, 阿魏酸的平均含量为每粒 0.0281 mg, $RSD = 1.67\%$ 。

1.3.7 加样回收率试验 精密称取 0.5 g 已测含量的供试品, 5 份, 分别置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 7.5 ml 7.212 μg·ml⁻¹ 的对照品溶液, 按 “1.3.2” 项方法测定, 计算回收率。结果平均回收率为 100.81%, $RSD = 0.81\%$ ($n = 5$)。

1.3.8 样品的测定 取 6 批样品, 按 “1.3.2” 项方法处理, 测得每粒的含量分别为 0.0220, 0.0219, 0.0263, 0.0265, 0.0275, 0.0277 mg。

2 讨论

文中研究增加了当归、三七、冰片的薄层鉴别, 采用 HPLC 法测定了处方中当归的有效成分阿魏酸的含量, 样品处理方法简单、薄层色谱图清晰、结果准确、重复性良好, 可用于该制剂的质量控制。

参考文献:

[1] 王妙闻, 张芝, 张静, 等. HPLC 测定川芎中的总阿魏酸 [J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(1): 100-102.

收稿日期: 2007-11