

[质 量]

当归流浸膏质量标准的研究

李新章, 唐丽华*, 游本刚, 潘海敏, 张 倩, 杨世林
(苏州大学医学部 药学院, 江苏 苏州 215123)

关键词: 当归流浸膏; 阿魏酸; 藁本内酯; TLC; HPLC

摘要: 目的: 建立当归流浸膏的质量控制标准。方法: 对当归流浸膏中阿魏酸和藁本内酯采用薄层色谱法进行定性鉴别, 采用 HPLC 梯度洗脱法进行定量检测, 色谱条件为 Diamonsil ODS C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相 A 甲醇 (含 0.4% 冰醋酸), B 0.4% 冰醋酸水溶液, 梯度洗脱 (0~15 min, 38% A; 15~20 min, 38%~70% A; 20~40 min, 70% A; 40~45 min, 70%~38% A), 检测波长为 323 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 35 ℃。结果: 阿魏酸和藁本内酯分别在 1.008~10.08 μg/mL 和 9.985~99.85 μg/mL 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 98.11% 和 101.61%, RSD 值分别为 1.58% 和 1.32%。结论: 该方法简便易行, 具有良好的重现性和稳定性, 可用于当归流浸膏的质量控制。

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2010)02-0224-04

Quality standards for Chinese extractum angelicae liquidum

LIXin-zhang, TANG Li-hua*, YOU Ben-gang, PAN Hai-min, ZHANG Qian, YANG Shi-lin

(School of Pharmacy, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China)

KEY WORDS: Chinese extractum angelicae liquidum; ferulic acid; ligustilide; TLC; HPLC

ABSTRACT: **A M:** To establish the quality standards for Chinese extractum angelicae liquidum. **METHODS:** TLC was used to identify ferulic acid and ligustilide and HPLC to determine the content of ferulic acid and ligustilide. HPLC was performed on a Diamonsil ODS-C₁₈ analytical column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with gradient elution (0-15 min, 38% A; 15-20 min, 38% A-70% A; 20-40 min, 70% A; 40-45 min, 70% A-38% A) of methanol (A, containing 0.4% glacial acetic) and 0.4% glacial acetic acid (B) at the flow rate of 1.0 mL/min. The diode array detection wavelength was set at 323 nm and the column temperature was at 35 ℃. **RESULTS:** The linear range of ferulic acid and ligustilide were from 1.008 μg/mL to 10.08 μg/mL and 9.985 μg/mL to 99.85 μg/mL, the average recoveries of both were 98.11% and 101.61%, RSD were 1.58% and 1.32%. **CONCLUSION:** The method is rapid, simple and accurate with high reproducibility and can be used to control the quality of Chinese extractum angelicae liquidum.

当归是伞形科植物当归的干燥根。其化学成分主要有有机酸及挥发油两大类, 其中阿魏酸和藁本内酯分别为两部分的代表性指标成分。现代药理研究表明, 当归流浸膏可养血调经, 用于血虚血瘀所致的月经不调、痛经。阿魏酸有抑制肝合成胆固醇, 降低血脂的作用^[1]; 藁本内酯对动脉粥样硬化、脉管炎和脑血栓等心脑血管疾病有防治作用, 并有很强的解痉、平喘、镇定作用^[2]。2005版《中国药典》一部中对当归流浸膏的质量控制仅限于乙醇量和总固

体量, 因此有必要增加其指标成分阿魏酸和藁本内酯的定性鉴别、定量检测项, 以对其质量进行合理、有效的控制^[3]。

1 试药与仪器

当归药材 (来源及鉴定结果见表 1), 阿魏酸对照品 (ferulic acid, FA; 批号: 110773-200611, 中国药品生物制品检定所), 藁本内酯对照品 (ligustilide, LD; 日本和光纯药工业株式会社), 硅胶 G 预制薄层板 (上海信宜仪器厂), 甲醇 (色谱纯, 美国天地), 其

收稿日期: 2008-12-26

基金项目: 《中国药典》2010版一部当归流浸膏质量标准研究 (课题编号: TS-14)

作者简介: 李新章 (1985 -), 男, 在读研究生。

*通讯作者: 唐丽华 (1952 -), 女, 副教授, 硕士生导师。Tel: (0512) 65880029 E-mail: tanglihua@suda.edu.cn

它试剂均为分析纯。

LC-10AT VP 高效液相色谱仪 (日本岛津公司), SPD-M10A VP 二极管阵列检测器 (日本岛津公司), CTO-10AS VP 柱温箱 (日本岛津公司), 精密电子天平 (Startorius), 高速中药粉碎机 (上海天谊仪器有限公司)。

2 当归流浸膏的制备及检查

2.1 当归药材来源及鉴定 当归主产于甘肃岷县、武都、漳县、成县、文县等地。本实验收集到产自甘肃、云南丽江、甘肃会川、甘肃岷县和甘肃陇西 5 个产地的当归原药材或饮片 (见表 1), 经苏州大学药学院生药学教研室刘春宇教授鉴定, 均为伞形科植物当归的干燥根。按 2005 版药典一部当归项下要求对收集到的当归原药材或饮片进行质量检查, 结果均符合规定。见表 1。

表 1 当归药材来源说明

样品编号	当归药材来源	炮制方法
1	甘肃 (全当归, 饮片, 购于苏州天灵中药饮片厂, 批号: 071123-1)	机械化生产
2	云南丽江 (全当归, 原药材和饮片, 购于丽江华利中药饮片有限公司, 批号: 0806001)	机械化生产
3	甘肃会川 (全当归, 原药材, 购于当地药市)	实验室炮制
4	甘肃岷县 (全当归, 原药材, 购于当地药市)	实验室炮制
5	甘肃陇西 (全当归, 饮片, 购于吴江上海蔡同堂中药饮片有限公司, 批号: 20060194)	机械化生产

2.2 当归流浸膏的制备 按 2005 年版中国药典一部当归流浸膏的制法^[3]: 取当归粗粉 1 000 g, 照流浸膏剂与浸膏剂项下的渗漉法 (2005 年版中国药典附录 O), 用 70% 乙醇作溶剂, 浸渍 48 h, 缓缓渗漉, 收集初漉液 850 mL, 另器保存, 继续渗漉, 至漉液近无色或微黄色为止, 收集续漉液, 在 60 以下浓缩至稠膏状, 加入初漉液 850 mL, 混匀, 用 70% 乙醇稀释至 1 000 mL, 静置数日, 滤过, 即得。

2.3 检查 按 2005 年版中国药典一部当归流浸膏检查项目^[3], 分别对各产地药材所制备的流浸膏进行乙醇量和总固体量的检查, 结果均符合规定。

3 薄层色谱鉴别

3.1 阿魏酸的薄层鉴别^[3] 取当归流浸膏 3 mL, 加 1% 碳酸氢钠溶液 50 mL, 充分振荡后, 用稀盐酸调节 pH 值至 2~3, 乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 挥干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取阿魏酸对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (2005 年版中国药典附录 B) 试验, 吸取上述两种溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以

苯 醋酸乙酯 甲酸 (4 1 0.1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视, 结果见图 1。供试品薄层色谱中, 在与对照品相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

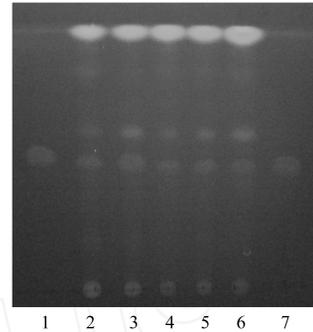


图 1 当归流浸膏中阿魏酸的薄层鉴别图谱

1. 7. 阿魏酸对照品 2 产地甘肃 3 产地云南丽江 4 产地甘肃会川 5 产地甘肃岷县 6 产地甘肃陇西

3.2 藁本内酯的薄层鉴别^[4,5] 取当归流浸膏 2 mL, 加入石油醚 (30~60) 50 mL, 分 5 次振荡提取, 每次 10 mL, 合并石油醚液。水浴加热挥去石油醚, 残渣加 1 mL 的甲醇溶解, 作为供试品溶液。另取藁本内酯对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (附录 B) 试验, 吸收上述两种溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 醋酸乙酯 (9 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视, 结果见图 2。供试品薄层色谱中, 在与对照品相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

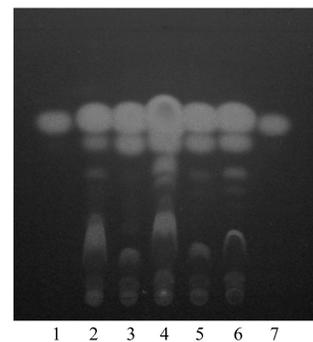


图 2 当归流浸膏中藁本内酯的薄层鉴别图谱

1. 7. 藁本内酯对照品 2 产地甘肃 3 产地云南丽江 4 产地甘肃会川 5 产地甘肃岷县 6 产地甘肃陇西

4 含量测定

4.1 色谱条件^[6,7] 色谱柱: Diamonsil ODS C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 甲醇 (0.4% 冰醋酸), B 0.4% 冰醋酸水溶液; 梯度洗脱程序: 0~15 min 38% A, 15~20 min 38%~70% A, 20~40 min

70% A, 40 ~ 45 min 70% ~ 38% A;检测波长为 323 nm;柱温为 35 ;流速为 1.0 mL/min。混合对照品和供试品色谱图见图 3。

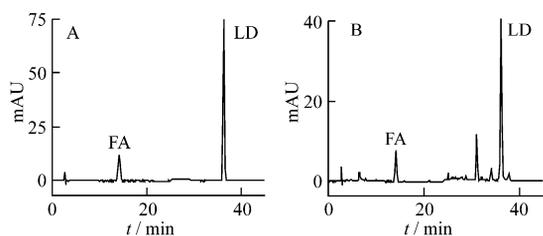


图 3 混合对照品及供试品 HPLC 色谱图 (A 混合对照品; B 供试品)

4.2 对照品溶液和供试品溶液的制备

对照品溶液的制备:精密量取质量浓度为 1.008 mg/mL 的阿魏酸对照品溶液 2 mL,置于 100 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度。精密量取质量浓度为 798.8 μg/mL 的藁本内酯对照品溶液 2.5 mL,置于 10 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度。将上述两溶液等量混合,即得混合对照品溶液。

供试品溶液的制备:精密量取当归流浸膏样品 1 mL,置 100 mL 量瓶中,甲醇定容,滤过,即得。

4.3 方法学考察

4.3.1 线性关系考察 精密吸取上述混合对照品溶液 1、2、4、6、8、10 mL 于 10 mL 棕色量瓶中,甲醇定容至刻度。按 4.1 项下色谱条件,取 10 μL 注入液相色谱仪测定峰面积,以质量浓度 (C) 对峰面

积 (A) 进行线性回归。阿魏酸标准曲线为 $A = 63.372C - 12.374$, $r = 0.9999$ ($n = 5$),线性范围为 1.008 ~ 10.08 μg/mL;藁本内酯标准曲线为 $A = 23.743C - 20.218$, $r = 0.9998$ ($n = 5$),线性范围为 9.985 ~ 99.85 μg/mL。

4.3.2 稳定性试验 配制适当浓度的混合对照品和供试品溶液,室温放置。分别于不同的时间点进样 10 μL 测定峰面积。测得在 12 h 内,混合对照品溶液中阿魏酸和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.70% 和 1.05%;24 h 内,供试品溶液中阿魏酸和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.87% 和 1.96%。表明混合对照品溶液在 12 h 内稳定,供试品溶液在 24 h 内稳定。

4.3.3 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液,进样 10 μL,重复进样 6 次,记录峰面积,阿魏酸和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.65% 和 0.82%,表明仪器精密度良好。

4.3.4 重复性试验 取同一批供试品 6 份,按 4.2 项下供试品制备方法制备供试品溶液,按 4.1 项下色谱条件进行测定,阿魏酸和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.36% 和 1.56%,表明重现性良好。

4.3.5 加样回收率试验 取已知含量的同一批样品,精密称定 6 份,分别加入 2.420 μg 的阿魏酸和 13.350 μg 的藁本内酯,按 4.2 项下供试品溶液制备方法制备,并按 4.1 项下色谱条件测定并计算阿魏酸和藁本内酯的平均回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收试验结果

加入量 / μg		测得量 / μg		回收率 / %		平均值 / %		RSD / %	
阿魏酸	藁本内酯	阿魏酸	藁本内酯	阿魏酸	藁本内酯	阿魏酸	藁本内酯	阿魏酸	藁本内酯
2.420	13.350	4.796	27.235	98.22	104.02				
2.420	13.350	4.745	26.739	95.17	101.00				
2.420	13.350	4.788	26.575	99.30	99.83				
2.420	13.350	4.757	26.791	96.98	100.49	98.11	101.61	1.58	1.32
2.420	13.350	4.809	26.919	100.41	101.35				
2.420	13.350	4.788	27.089	98.60	103.00				

4.4 样品含量测定 分别精密吸取混合对照品及供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,测定不同产地当归制备的流浸膏中阿魏酸和藁本内酯的峰面积,代入 4.3.1 项下标准曲线方程计算阿魏酸和藁本内酯的含量,结果见表 3。

5 讨论

5.1 试验中对配制供试品溶液的溶剂种类、浓度和稀释倍数进行了考察。结果表明,采用纯甲醇作为溶剂将当归流浸膏样品稀释 100 倍,得到的色谱图中阿魏酸和藁本内酯峰的峰形较好,各项色谱参数

均符合规定。

5.2 经紫外扫描,阿魏酸在 321 nm 处有最大吸收;藁本内酯在 325 nm 处有最大吸收,故本实验选择 323 nm 作为两者的检测波长。

5.3 由于无法收集市售当归流浸膏制剂,故当归流浸膏样品只能采用实验室自制,与工业化大生产样品可能会有一定的差异。而市售的当归药材主要是甘肃当归饮片,且未分具体产地,给药材样本的收集带来一定困难。仅从市售当归药材及其流浸膏中阿魏酸的含量测定结果来看,采用渗滤法制备的当归

表 3 不同产地当归制备的当归流浸膏中阿魏酸和
藁本内酯的含量

样品	含量 / %		平均含量 / %		RSD / %	
	阿魏酸	藁本内酯	阿魏酸	藁本内酯	阿魏酸	藁本内酯
甘肃	0.034	0.339				
	0.033	0.347	0.034	0.341	1.573	1.314
	0.034	0.337				
云南丽江	0.079	0.987				
	0.077	0.990	0.078	0.983	1.053	0.775
	0.079	0.973				
甘肃会川	0.042	1.057				
	0.046	1.111	0.044	1.081	3.090	2.098
	0.044	1.073				
甘肃岷县	0.064	1.706				
	0.072	1.838	0.070	1.800	5.493	3.730
	0.073	1.856				
甘肃陇西	0.044	0.893				
	0.044	0.864	0.044	0.880	0.867	1.385
	0.045	0.883				

流浸膏中阿魏酸的转移率最低为 36.67%。根据 2005 版中国药典一部规定当归药材中阿魏酸的含量不得少于 0.050%，按最低转移率计算，当归流浸膏中阿魏酸的含量应不得少于 0.018% (W/V)；当归流浸膏中藁本内酯的含量约为阿魏酸的 10~20 倍，但藁本内酯极不稳定，常温下易转化为其异构体，其单体应在 -80℃ 下保存^[8]。根据稳定性加速试验（室温和 40℃ 避光放置）和不合格当归药材制备的流浸膏中阿魏酸和藁本内酯的含量测定结果，建议以当归流浸膏中阿魏酸含量的 10 倍来规定藁

本内酯的含量。因此按药材干燥品计算，当归流浸膏中阿魏酸含量不得少于 0.018%，藁本内酯含量不得少于 0.18%。

5.4 本研究制订的当归流浸膏的薄层色谱鉴别及其指标成分阿魏酸和藁本内酯的含量测定方法，简便易行、重现性较好。为 2010 版《中国药典》当归流浸膏质量标准的制定提供了可靠的依据，具有一定的参考价值。

参考文献：

- [1] 尹钟珠, 张凌云, 徐理纳. 当归及其成分阿魏酸对大鼠血小板聚集和 5-H₁ 释放的影响 [J]. 药学报, 1980, 15(6): 321.
- [2] 汪程远, 杜俊蓉, 钱忠明. 藁本内酯的研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(12): 889-890.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2005: 89, 274.
- [4] 杨永寿, 肖培云. 当归片质量标准的研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(1): 33-34.
- [5] 傅欣彤, 刘颖, 张小茜. 当归质量标准的研究 [J]. 中国中医药信息杂志. 2003, 10(8): 43-46.
- [6] 谢京晶, 于玥, 王一涛, 等. HPLC 法同时测定当归药材中 6 种成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(9): 1314-1316.
- [7] 胡杰, 冯丽莉, 刘延, 等. 当归、川芎中藁本内酯含量测定及醇提工艺研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(2): 145-148.
- [8] 李慧, 王一涛. 藁本内酯稳定性的影响因素及稳定化措施 [J]. 江西中医学院学报, 2003, 15(1): 56-57.

HPLC 测定清开灵颗粒中黄芩苷、栀子苷及胆酸、猪去氧胆酸的含量

韩 杰

(北京市海淀区药品检验所, 北京 100083)

关键词: HPLC; 清开灵颗粒; 黄芩苷; 栀子苷; 胆酸; 猪去氧胆酸

摘要: 目的: 用高效液相色谱法同时测定清开灵颗粒(胆酸、猪去氧胆酸、黄芩苷、栀子、水牛角、金银花、板蓝根、珍珠母)中黄芩苷、栀子苷 2 种苷类成分的含量; 胆酸、猪去氧胆酸 2 种胆酸类成分的含量, 为制定该制剂质量标准中含量测定方法及限度提供依据。方法: 测定黄芩苷和栀子苷用 Kromasil™ C₁₈ 分析柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (10:90), 检测波长: 238 nm, 测定胆酸和猪去氧胆酸用 Kromasil™ C₁₈ 分析柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水-磷酸 (35:65:0.1), 检测波长: 192 nm。结果: 该方法回收率黄芩苷: 99.30% (RSD = 0.2%), 栀子苷: 99.50% (RSD = 0.4%), 猪去氧胆酸: 99.04% (RSD = 0.2%), 胆酸: 99.06% (RSD = 0.4%)。结论: 结果表明该方法准确可靠, 重现性好, 结果稳定。

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2010)02-0227-05

收稿日期: 2008-12-22

作者简介: 韩 杰 (1965 -), 女, 副主任中药师, 研究方向: 药品检验。Tel: 13146396687 (010) 62312320