

苏氏接骨胶囊中当归和川芎的 TLC 鉴别及总阿魏酸的 HPLC 测定

高 颖, 房德敏*, 王巨存, 赵 薇, 郑 榕

(天津市天津医院 药剂科, 天津 300211)

摘 要: **目的** 建立苏氏接骨胶囊中当归和川芎的定性鉴别和总阿魏酸的定量检测方法。**方法** 采用薄层色谱法对苏氏接骨胶囊中的当归和川芎进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法对阿魏酸进行定量测定。色谱柱为 Thermo C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱, 流动相为乙腈-1%醋酸溶液 (20:80), 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 ℃, 检测波长 320 nm。**结果** 薄层色谱清晰, 分离良好, 阴性无干扰。阿魏酸在 0.42~2.24 μg 线性关系良好 ($r = 0.9999$), 平均回收率为 99.26%, RSD 为 1.27%。**结论** 所建立的方法准确、快速、简便、重现性好, 可作为苏氏接骨胶囊的质量控制方法。

关键词: 苏氏接骨胶囊; 总阿魏酸; 当归; 川芎; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R927.11

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)06-0453-04

Identification of *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* and quantification of total ferulic acid in Su's Fracture Healing Capsule by TLC and HPLC

GAO Ying, FANG De-min, WANG Ju-cun, ZHAO Wei, ZHENG Rong

(Pharmacy Department, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China)

Abstract: Objective To establish methods for identification and quantification of *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* in Su's Fracture Healing Capsule. **Methods** Su's Fracture Healing Capsules were identified by TLC. A new HPLC method was developed to quantitatively analyze the total ferulic acid which was the sum of free ferulic acid and hydrolyzed components. A Thermo C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-1% acetic acid (20:80) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min and the column temperature was at 25 ℃. The detective wavelength was set at 320 nm. **Results** Spots obtained from the test solutions had the same color as *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* reference substances and the blank solution had no interference. The linearity range of ferulic acid was 0.42—2.24 μg. The average recovery of ferulic acid was 99.26% with the RSD of 1.27%. **Conclusion** The method of identification and quantification were accurate, simple and reproducible. It can be used for the quality control of Su's Fracture Healing Capsule.

Key words: Su's Fracture Healing Capsule; total ferulic acid; *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; *Ligusticum chuanxiong* Hort.; TLC; HPLC

苏氏接骨胶囊具有舒筋活血、化瘀、补肾壮骨的功效, 临床上对各种类型的骨折、跌打损伤和骨质疏松疗效显著。笔者^[1]曾建立了苏氏接骨胶囊中骨碎补等药味的微乳薄层色谱 (ME-TLC) 鉴别法, 并用高效液相色谱 (HPLC) 法测定了柚皮苷的量。当归和川芎亦为苏氏接骨胶囊的主药, 川芎辛香行散、温通血脉, 为血中之气药和活血祛瘀之要药,

具促进骨折愈合、通达气血之功, 与补血活血药当归配伍, 可增强其活血散瘀、行气止痛之功效。文献 [2-4] 报道, 当归和川芎中除含有阿魏酸 (ferulic acid) 外, 还含有阿魏酸松柏酯 (coniferyl ferulate), 后者在一定条件下极易水解成阿魏酸和松柏醇 (coniferyl alcohol), 即使水浴加热都可能使其不同程度地水解。在川芎和当归药材及其制剂的质量控

* 通讯作者 房德敏, 主任药师, 研究方向为医院药学。Tel: 022-28317052, E-mail: fdm_wx@126.com

制中,常选择游离阿魏酸为指标成分,但阿魏酸的量随贮藏时间的延长而增加,可能是阿魏酸松柏酯在贮藏过程中水解成阿魏酸所致。由于仅测定游离阿魏酸不足以控制质量,所以提出了总阿魏酸的概念^[2]。总阿魏酸是指游离阿魏酸与结合阿魏酸水解后所得阿魏酸的总和,代表药材及制剂中实际发挥药效的阿魏酸的总量。以总阿魏酸作为当归和川芎药材的质量控制指标已有文献报道^[2,4-5]。本实验对同时含有当归和川芎的医院制剂苏氏接骨胶囊进行定性鉴别,并建立了总阿魏酸的定量检测方法。该法操作简便、准确、灵敏度高,可有效控制该制剂的质量,为建立同时含川芎和当归复方制剂质量评价体系中检测指标和质量控制方法的选择提供参考。

1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪(515HPLC 泵、486 紫外检测器,Millennium 2010 色谱工作站)。TCQ—250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂),TG332A 微量分析天平(湘仪天平仪器厂),ZF—1 型紫外分析仪(上海顾村光电仪器厂)。乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

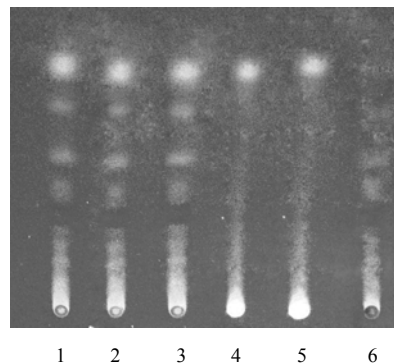
苏氏接骨胶囊(由天津医院药剂科制剂室提供,批准文号为津药制字 Z20070616 号,批号 061219、070313、070425、070529、070630);阿魏酸对照品(批号 0773-9901)、当归对照药材(批号 120927-200613)和川芎对照药材(批号 120918-200406)均由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 川芎和当归的 TLC 鉴别

取苏氏接骨胶囊内容物 18 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸至近干,加醋酸乙酯 50 mL 使溶解,用 1%氢氧化钠溶液 60 mL 振摇提取,取氢氧化钠溶液层,盐酸调 pH 至 1~2,再用醋酸乙酯 50 mL 振摇提取,分取醋酸乙酯层,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,离心,作为供试品溶液。取当归和川芎对照药材各 0.5 g,分别加甲醇 5 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液作为对照药材溶液。另取缺当归和川芎的阴性样品同法制成阴性对照溶液。按照 TLC 法(2010 年版《中国药典》一部附录 VI B)试验,吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L,当归和川芎对照药材溶液各 5 μ L,

分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(9:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光(365 nm)灯下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。阴性对照样品无干扰。结果见图 1。



1- 苏氏接骨胶囊(061219) 2- 苏氏接骨胶囊(070313)
3- 苏氏接骨胶囊(070529) 4- 川芎对照药材
5- 当归对照药材 6- 阴性对照品

图 1 川芎和当归的 TLC 图

2.2 总阿魏酸的测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱为 Thermo C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)柱,柱温 25 $^{\circ}$ C,流动相为乙腈-1%醋酸溶液(20:80),体积流量 1.0 mL/min,检测波长 320 nm,进样量 20 μ L,色谱柱理论塔板数按阿魏酸计算不低于 5 000。

2.2.2 对照品溶液的制备

取经五氧化二磷干燥至恒定质量的阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇-冰醋酸(99:1)制成 0.140 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备

取苏氏接骨胶囊内容物 18 g,精密称定,置 50 mL 具塞棕色锥形瓶中,精密加入 25 mL 甲醇-2%碳酸氢钠溶液(95:5),称定,超声处理 100 min,放至室温,加甲醇-2%碳酸氢钠溶液(95:5)补足减失的质量,摇匀,微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,即得。

2.2.4 阴性对照试验

为进一步考察实验设计及定量测定方法的可行性和专属性,取不含当归和川芎的处方药材,按制备工艺制成缺当归和川芎的阴性样品,再按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。精密吸取 20 μ L 注入液相色谱仪,按“2.2.1”项下方法测定,结果表明阿魏酸阴性对照溶液的色谱图在阿魏酸相应的保留

时间处无干扰峰(图2),表明本方法具有良好的专属性。

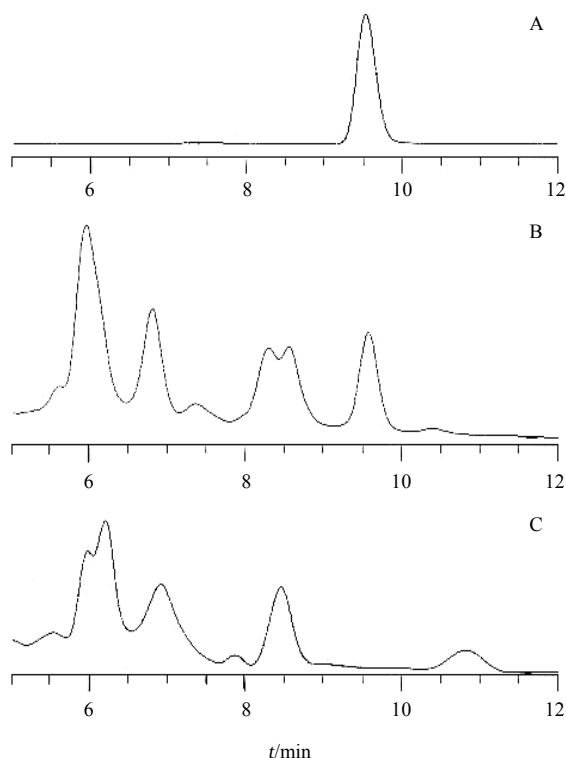


图2 阿魏酸对照品(A)、苏氏接骨胶囊(B)和阴性对照品(C)的HPLC图

2.2.5 线性关系考察

取对照品溶液适量,配制成不同质量浓度(0.021、0.028、0.035、0.042、0.112 mg/mL)的系列阿魏酸对照品溶液,分别精密吸取20 μ L,按“2.2.1”项下条件检测,记录峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=2\,184\,109\,X+573\,326.7$, $r=0.999\,9$,表明阿魏酸在0.42~2.24 μ g 线性关系良好。

2.2.6 精密度试验

取同一质量浓度(0.035 mg/mL)的阿魏酸对照品溶液20 μ L,按照“2.2.1”项下色谱条件重复进样测定5次,阿魏酸峰面积积分值的RSD为1.89%,表明仪器的精密度良好。

取同一质量浓度的供试品溶液20 μ L,按照“2.2.1”项下色谱条件重复进样测定5次,阿魏酸峰面积积分值的RSD为1.13%,表明本方法的精密度良好。

2.2.7 稳定性试验

取同一批号(070630)样品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别在0、4、8、12、24 h 进

样20 μ L,测定,结果阿魏酸峰面积积分值的RSD为0.98%,表明供试品溶液在24 h 内稳定。

取质量浓度为0.035 mg/mL的阿魏酸对照品溶液,分别在0、4、8、12、24 h 进样20 μ L,测定,结果阿魏酸峰面积积分值的RSD为0.36%,显示阿魏酸对照品溶液在24 h 内稳定。

2.2.8 重现性试验

取苏氏接骨胶囊样品(批号070630),按照“2.2.3”项下方法制备5份供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件测定,结果总阿魏酸质量分数的RSD为1.39%。

2.2.9 加样回收率试验

取已测定的苏氏接骨胶囊样品(批号070630)9 g,精密称定,共9份,均分3组,分别按样品中总阿魏酸质量分数的80%、100%、120%水平加入一定量的对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,外标法计算总阿魏酸的量并计算其加样回收率,结果平均回收率为99.26%,RSD为1.27%,表明本方法回收率良好。

2.2.10 样品测定

取不同批次的苏氏接骨胶囊样品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,每批次平行测定3次,外标法计算总阿魏酸的量,结果见表2。

表2 苏氏接骨胶囊中阿魏酸的测定结果($n=3$)

批号	阿魏酸/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
061219	0.371 2	1.35
070313	0.376 5	1.29
070425	0.372 4	1.01
070529	0.376 0	1.40
070630	0.374 1	1.11

3 讨论

3.1 定量指标的选择

川芎和当归是常用的大宗中药材,川芎为活血化瘀的常用中药之一,当归为补血要药。据统计,2010年版《中国药典》收录的同时含有当归和川芎的制剂共79种,占所载中成药总数的7.4%。本实验以总阿魏酸为量化指标,以甲醇-2%碳酸氢钠水溶液(95:5)为提取剂,超声处理100 min,所测得阿魏酸的量能代表苏氏接骨胶囊中实际发挥药效的阿魏酸的总量。与2010年版《中国药典》中阿魏

酸（游离阿魏酸）的测定方法^[6]比较，本实验所建立的方法测得的总阿魏酸的量明显增高，从而为建立同时含川芎和当归药材的复方制剂的质量评价体系的建立提供参考。

3.2 阿魏酸对照品的稳定性

阿魏酸的稳定性对制剂的质量控制有重要意义^[7-8]。笔者采用甲醇-冰醋酸（99：1）溶液配制阿魏酸对照品，能保证阿魏酸在24 h内稳定。

3.3 供试品溶液的制备

当归和川芎的TLC鉴别中，笔者先后考察了乙醚加热回流、甲醇-甲酸（95：5）超声处理等供试品溶液制备方法，以及甲苯-醋酸乙酯-甲酸（9：1：1）、石油醚-醋酸乙酯-甲酸（6：2：0.5）、正己烷-醋酸乙酯（6：1）和石油醚-乙醚（5：4）等多种展开系统，结果阴性样品均有干扰，且重现性差。最后将甲醇提取液蒸干加醋酸乙酯溶解，再用碱液萃取，用盐酸调节pH值至酸性，而后以醋酸乙酯萃取，这样可达到使阿魏酸等酚酸类与杂质分离的目的，且消除了干扰，最终建立了较为理想的薄层色谱鉴别方法。

3.4 HPLC的方法学考察

在总阿魏酸的HPLC方法学考察中，选择的乙腈-1%醋酸溶液系统能使苏氏接骨胶囊中的阿魏酸得到良好的分离，阴性无干扰。通过调整乙腈和1%醋酸溶液比例（18：82、19：81、20：80），发

现乙腈-1%醋酸溶液（20：80）作为流动相时供试品色谱分离最好，保留时间较适宜。

参考文献

- [1] 高颖, 房德敏, 王巨存, 等. 苏氏接骨胶囊中骨碎补和菟丝子的质量控制[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(4): 333-335.
- [2] Lu G H, Chan K, Leung K, et al. Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis* [J]. J Chromatogr A, 2005, 20(9): 209-219.
- [3] Yu Y, Zhang Q W, Wang Y T, et al. A rapid HPLC method for determination of coniferyl ferulate in *Angelica sinensis* and *Ligusticum chuanxiong* [J]. J Chin Pharm Sci, 2007, 16(3): 197-201.
- [4] 王妙闻, 张 艺, 张 静, 等. HPLC 测定川芎中的总阿魏酸[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(1): 100-102.
- [5] 吕光华, 程世琼, 陈金泉, 等. HPLC 测定川芎药材和饮片中游离阿魏酸和总阿魏酸的含量及其质量评价指标[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 49-53.
- [6] 中国药典[S]. 一部. 2010: 124.
- [7] 丁明玉, 马帅武, 刘德麟. 阿魏酸的稳定性及其在川芎和当归药材中的存在形式[J]. 中草药, 2004, 35(1): 28-30.
- [8] 徐自开, 蔡宝昌, 张 弦. 中药川芎中阿魏酸稳定性的研究[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(2): 25-27.

（收稿日期 2010-07-12）

中草药杂志社4种期刊为允许刊载处方药广告的

第一批医药专业媒体

据国家食品药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知，中草药杂志社编辑出版的《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*（CHM）、《现代药物与临床》、《药物评价研究》4本期刊作为第一批医药专业媒体，允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电 话：022-27474913 23006821

传 真：022-23006821

联系人：陈常青

E-mail: zcy@tiprpress.com

网 址：www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com