

## 血府逐瘀胶囊二次开发中原料药材质量控制的研究

高颖<sup>1,2</sup>, 高文远<sup>1</sup>, 刘岱琳<sup>2</sup>

1 天津大学 药物科学与技术学院, 天津 300072

2 武警医学院 生药教研室, 天津, 300162

**摘要** 目的: 建立血府逐瘀胶囊原料药材红花中羟基红花黄色素 A 和芦丁, 川芎中生物碱类成分川芎嗪和有机酸类物质阿魏酸的定量的测定方法, 从而建立多成分的定量标准。方法: 采用 HPLC 法, 色谱条件 (红花): C<sub>18</sub> 色谱柱, 以甲醇-0.4%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 0.5 mL/min, 柱温 40 °C。色谱条件 (川芎): C<sub>18</sub> 色谱柱, 以甲醇-1%冰醋酸水溶液 (32 : 68) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C。结果: 平均回收率分别为羟基红花黄色素 A 97.2%、RSD 为 2.3% ( $n=6$ ); 芦丁 99.6%、RSD 为 3.2% ( $n=6$ ); 川芎嗪 100.9%、RSD 为 2.2% ( $n=6$ ) 阿魏酸 98.6%、RSD 为 2.6% ( $n=6$ )。结论: 本方法简便、快速、准确, 可作为血府逐瘀胶囊的原料药材的质量控制方法。

**关键词** 血府逐瘀胶囊; 红花; 川芎; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 03-0206-04

## Research on quality control of the raw medicines in secondary development of Xuefuzhuyu Capsula

GAO Ying<sup>1,2</sup>, GAO Wen-yuan<sup>1\*</sup>, LIU Dai-lin<sup>2</sup>

1 School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2 Department of Pharmacognosy, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China

**Abstract** **Objective:** To establish the HPLC methods for the determination of hydroxysafflor yellow A and rutin in raw material and ligustrazine and ferulic acid in *Ligusticum chuanxiong* of Xuefuzhuyu Capsula and quantitative criteria for multi-component. **Methods:** The HPLC was applied with a C<sub>18</sub> column for the determination of *Carthamus tinctorius* by gradient elution using methanol -0.4% phosphonic acid solution as the mobile phase. The flow rate was 0.5 mL/min and the temperature of column was 40°C. The HPLC was applied with a C<sub>18</sub> column for the determination of *L. chuanxiong* using methanol -1.0% acetic acid solution (32 : 68) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min and the temperature of column was 30°C. **Results:** The average recovery rates were 97.2%, 99.6%, 100.9%, and 98.6%, RSD were 2.3%, 3.2%, 2.2%, and 2.6% for hydroxysafflor yellow A and rutin, ligustrazine and ferulic acid, respectively ( $n=6$ ). **Conclusion:** The method is simple, rapid, and accurate. It can be used for the quality control of Xuefuzhuyu Capsula.

**Key words** Xuefuzhuyu Capsula; *Carthamus tinctorius* L.; *Ligusticum chuanxiong* Hort.; HPLC

传统中成药来源于长期的临床实践, 疗效确切, 为我国人民防病治病起到重要的作用。传统中成药选方具有扎实的理论和实践基础, 符合中医君臣佐使的配伍规律, 能较好地体现中医的优势和特色。但是, 长久以来传统中成药制剂剂型落后, 质量可

控性差, 不能充分发挥其临床疗效。因此传统中成药的二次开发越来越引起重视<sup>[1]</sup>, 提高其质量控制水平成为传统中成药二次开发中的重要内容。

血府逐瘀胶囊来源于清代王清任的《医林改错》, 由桃仁、当归、枳壳、川芎、柴胡、红花、牛

收稿日期: 2010-02-24

基金项目: 天津市科技创新专项资金项目 (06FZZDSH00404)

作者简介: 高颖 (1977—), 女, 在读博士生, 主要从事中药质量控制研究。E-mail: gyg77@163.com

\* 通讯作者 高文远 (1965—), 男, 教授, 博士生导师, 博士。研究方向: 中药和天然药物新产品的研究以及中药和天然药物的质量控制。  
E-mail: pharmgao@tju.edu.cn. Tel: 022-87401895

膝、赤芍、地黄、桔梗、甘草 11 味药组成。具有活血祛瘀，行气止痛之功效。主要用于瘀血内阻，胸痛或头痛，内热烦闷，失眠多梦，心悸怔忡，急躁易怒，冠心病心绞痛、血管及外伤性头痛等症<sup>[2,3]</sup>。我们对血府逐瘀胶囊进行二次开发，全面提升其质量控制水平，实现从药材入手到中间体到成药的全面控制，本文主要就原料药材红花、川芎质量控制研究结果作一报道，提高药材的质量控制方法，对成药的质量控制具有重要的意义。所建立的方法简单、快速，准确、可靠。

## 1 红花药材中羟基红花黄色素 A 及芦丁的定量测定

### 1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；Sartorius CP255D（北京赛多利斯天平有限公司）；KQ3200DB 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）

乙腈（康科德，色谱醇）；水为去离子水；甲醇（康科德，分析纯）。羟基红花黄色素 A（批号 11637-200704）由中国药品生物制品检定所提供，芦丁购自中新药业。红花药材由宏仁堂药业有限公司提供。

### 1.2 方法与结果

#### 1.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Waters Sunfire columns C<sub>18</sub>（4.6 mm×150 mm，5 μm）色谱柱；流动相：A（甲醇）-B（0.4%磷酸水溶液），梯度洗脱：0~15 min（B：68%），15~30 min（B：68%→60%）；体积流量 0.5 mL/min；柱温 40℃；检测波长采用可变波长检测，0 min（403 nm），18 min（403 nm），30 min（359 nm）。色谱图见图 1。

#### 1.2.2 供试品溶液的制备

称取红花粉末 0.5 g，精密称定，加 50%甲醇 50 mL，静置过夜，称定质量，超声提取 45 min（功率 100 W），放冷后以 50%甲醇补足损失质量，取上清液于 3 500 r/min 转速下离心 15 min，上清液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，作为供试品溶液。

#### 1.2.3 对照品溶液的制备

精密称取羟基红花黄色素 A 对照品 1.32 mg，芦丁对照品 2.11 mg 置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容，制成羟基红花黄色素 A 浓度为 0.132 mg/mL，芦丁 0.211 mg/mL 的混标溶液。

### 1.2.4 线性关系考察

分别精密吸取混合对照品 2.5、5、7.5、10、20 μL 注入液相色谱仪中，以进样量的为横坐标，峰面积为纵坐标，线性回归方程分别为：羟基红花黄色素 A： $Y=7\,369.7X+245.85$ ， $r=0.999\,7$ ，结果表明，羟基红花黄色素 A 在进样量为 0.32~2.53 μg 线性关系良好；芦丁： $Y=187.09X+14.31$ ， $r=0.999\,6$ ，结果表明，芦丁在进样量为 0.53~4.22 μg 线性关系良好。

### 1.2.5 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 20 μL 进样，测定各成分的峰面积，重复 6 次，分别计算其 RSD，结果羟基红花黄色素和芦丁的 RSD 分别为 1.23%、1.67%。

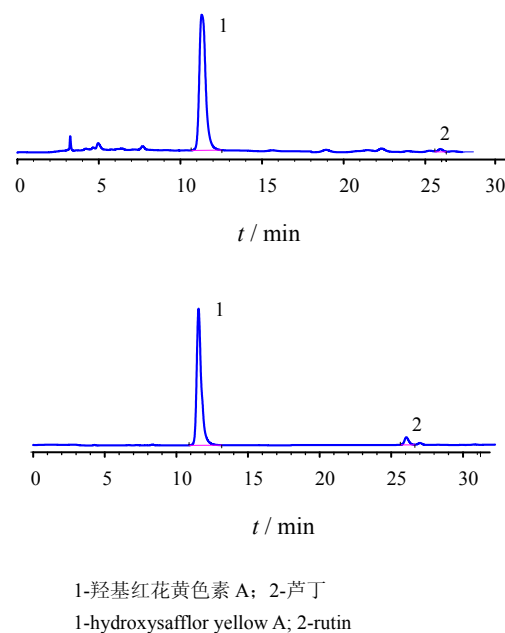


图 1 混合对照品 (A)、红花供试品 (B) HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and *C. tinctorius* (B)

### 1.2.6 重现性试验

取样品 6 份，分别制备供试品溶液，各取 10 μL 进样，测定峰面积，计算各成分的质量分数和 RSD，结果羟基红花黄色素和芦丁的 RSD 分别为 1.38%、1.69%。

### 1.2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液，分别于 0、2、4、6、8、10 h 各取 10 μL 进样测定各成分的峰面积，分别计算 RSD，结果表明供试品溶液在室温条件下 10 h

内稳定。

1.2.8 加样回收率试验

精密称取样品适量，共 6 份，分别加入一定量对照品，按照供试品制备方法处理，进行含量测定，计算回收率。结果羟基红花黄色素 A 和芦丁的平均回收率和 RSD 分别为 97.2%、2.3% 99.6、3.2%。

1.2.9 样品的测定

取供试品溶液 6 份，按照上述色谱条件，进样 10  $\mu$ L，以回归方程计算各成分的质量分数，结果见表 1。

表 1 红花中羟基红花黄色素 A 和芦丁的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of hydroxysafflor yellow A and rutin in *C. tinctorius* (n=3)

序号	羟基红花黄色素 A/%	芦丁/%
1	1.32	0.75
2	1.35	0.75
3	1.32	0.71
4	1.35	0.75
5	1.33	0.8
6	1.32	0.82
平均值	1.33	0.76

2 川芎药材中阿魏酸川芎嗪的测定

2.1. 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；Sartorius CP255D（北京赛多利斯天平有限公司）；KQ3200DB 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）

乙腈（康科德，色谱醇）；水为去离子水；甲醇（康科德，分析纯）。盐酸川芎嗪（批号 110847-200305），阿魏酸（批号 111773-200611）由中国药品生物制品检定所提供，芦丁购自中新药业。川芎药材由宏仁堂药业有限公司提供。

2.2 方法与结果

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 HiQ siLC<sub>18</sub>（4.6 mm×250 mm）色谱柱；流动相：甲醇-水（1%冰醋酸）（32：68）；体积流量 1 mL/min；柱温 30  $^{\circ}$ C；检测波长 295 nm。

2.2.2 供试品溶液的制备

精密称取药材粉末（过 40 目筛）约 1 g，置 100 mL 圆底烧瓶中，调节 pH 值到 2，加 20 mL 50%甲醇回流提取 1 次，提取时间为 60 min。提取液离心，取上清液定容至 25 mL 量瓶，0.45  $\mu$ m 微孔滤膜过

滤，作为供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备

精密称取盐酸川芎嗪对照品 0.36 mg，阿魏酸对照品 0.72 mg 置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容配置混合对照品溶液储备液；精密量取上述溶液 2 mL 置 10 mL 量瓶中，用甲醇定容，制得混合对照品溶液：川芎嗪为 18.0  $\mu$ g/mL，阿魏酸为 36.1  $\mu$ g/mL。见图 2。

2.2.4 线性关系考察

分别精密吸取混合对照品注入液相色谱仪中，以进样量为横坐标，峰面积纵坐标，线性回归方程分别为：川芎嗪  $Y=3\,725.1X+4.821\,4$ ， $r=0.999\,9$ ，结果表明，川芎嗪在进样量为 0.09~0.72  $\mu$ g 线性关系良好；阿魏酸  $Y=4\,142.1X+40.123$ ， $r=0.999\,6$ ，结果表明，阿魏酸在进样量为 0.18~1.44  $\mu$ g 线性关系良好。

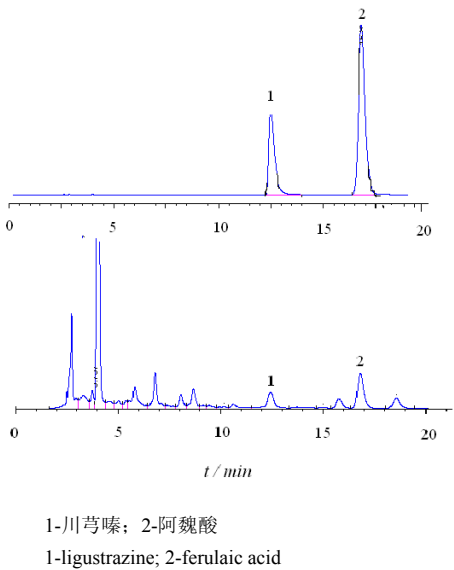


图 2 混合对照品 (A)、川芎供试品 (B) HPLC 色谱图  
Fig.2 HPLC-ELSD Chromatograms of mixed reference substances (A), *L. chuanxiong* (B)

2.2.5 加样回收率考察

精密称取对照品适量，共 6 份，分别加入一定量对照品，按照供试品制备方法处理，进样测定，计算回收率。结果川芎嗪和阿魏酸的平均回收率和 RSD 分别为 100.9%、2.2%；98.6%、2.6%。

2.2.6 样品的测定

取供试品溶液 5 份，按照上述色谱条件，进样 10  $\mu$ L，测定，以回归方程计算各成分的质量分数，结果见表 2。

表2 川芎中川芎嗪和阿魏酸的测定结果 (n=3)  
Table 2 Determination of ligustrazine and ferulaic acid  
in *L. chuanxiong* (n=3)

序号	川芎嗪/%	阿魏酸/%
1	0.37	0.64
2	0.38	0.64
3	0.37	0.62
4	0.37	0.62
5	0.39	0.63

### 3 讨论

3.1 血府逐瘀处方由十一味药材组成,对其指纹图谱的研究已有报道<sup>[7]</sup>。川芎、红花为方中君药,提升其质量控制方法,对成药的质量控制具有重要的意义。目前,对其原料药材红花、川芎有效成分的提取大多都只针对于某一个(或某一类)组分,并以某一个(或某一类)组分的提取量为指标来对不同提取方法进行评价。但中药的药效不是来自单一的活性化学成分,而是来自多种活性成分之间的协同作用,甚至是与某些“非活性成分”的协同效应或“生克作用”。因此,任何单一的活性化学成分或指标成分都难以评价中药的质量。张贵君等<sup>[8]</sup>提出,可建立中药标准物质质量标准体系。本实验同时检测了红花中羟基红花黄色素 A 和芦丁,川芎中生物碱类成分川芎嗪和有机酸类物质阿魏酸的量,从而建立了原药材多成分的定量标准,对成药的质量控制具有重要的意义。

3.2 为了尽可能全面反映药材的化学信息,实验对供试品溶液的制备方法均进行考察。分别对提取方式和提取溶剂进行选择,最终确定了提取方法。

3.3 对于紫外检测波长的选择,通过查阅资料,盐酸川芎嗪的最大吸收波长为 295 nm,阿魏酸在 313 nm 和 292 nm 下都有最大吸收,因此选择了检测波长为 295 nm,且在此波长下,两种有效成分的峰形良好,峰面积较高,可以用于分析。

### 参考文献:

- [1] 刘 敏,王庆国. 浅述中药二次开发在中医药发展中的重要性[J]. 中草药, 2004, 35(7):721.
- [2] 张学文.《医林改错》一书的学习与活血化瘀方药的运用. 天津中医药, 2006, 23(1):1.
- [3] 王桂英,王 齐,谢希钧,等.血府逐瘀胶囊方解及功效[J]. 天津药学, 1997, 9(1):37.
- [4] 姜启娟,于 艳,张 栋. HPLC 法测定川芎中阿魏酸的含量[J]. 中国医药研究, 2005, 12(6):486.
- [5] 张 慧,裴志东,佟全胜,等. HPLC 法测定川芎及制剂中阿魏酸的含量[J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(4):394.
- [6] 陶春梅,于治国,袁 璐,等. 红花药材中红花黄色素 A 的 HPLC 测定[J]. 西北药学杂志, 2006, 21(6):254.
- [7] 鄢 燕,汤宏敏,饶 毅,等. 血府逐瘀口服液的高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中 草 药 , 2009, 40(4):566-568.
- [8] 张贵君,杨晶凡. 中药标准物质的科学内涵及其研究思路[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(2):71-72.