

复方川芎滴丸的质量控制研究

肖婷¹, 崔炯谟¹, 安晔², 马宏达², 郭正红³, 史国兵^{2*}, 赵余庆^{3,4*}

1. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133000

2. 沈阳军区总医院, 辽宁 沈阳 110016

3. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

4. 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 建立复方川芎滴丸的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法对复方中当归、川芎进行了定性鉴别, 采用高效液相色谱法对当归、川芎中阿魏酸进行了定量测定。**结果** 薄层色谱分离度好; 阿魏酸在 0.001~0.100 mg/mL 与峰面积线性关系良好, 平均回收率为 102.06%, RSD 值为 2.25% ($n=6$)。**结论** 所建立的方法准确可靠, 灵敏度高, 专属性强, 可有效控制复方川芎滴丸的质量。

关键词: 复方川芎滴丸; 阿魏酸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)05-0427-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.05.011

Quality control on Compound *Chuanxiong Rhizoma* Pills

XIAO Ting¹, CUI Jiong-mo¹, AN Ye², MA Hong-da², GUO Zheng-hong³, SHI Guo-bing², ZHAO Yu-qing^{3,4}

1. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China

2. General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016, China

3. College of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

4. Key Laboratory of Structure-based Drug Design and Discovery of Ministry of Education, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: **Objective** To establish the quality standard for Compound *Chuanxiong Rhizoma* Pills. **Methods** TLC method was performed to identify *Angelica sinensis*, *Rhizoma Chuanxiong* in Compound *Rhizoma Chuanxiong* Pills and HPLC was used to determine the content of ferulic acid in *Angelica sinensis* and *Chuanxiong Rhizoma*. **Results** TLC had good resolution and specificity. The ferulic acid showed a good liner relationship within the range of 0.001—0.1 mg/mL. The average recovery rate was 102.06% with RSD of 2.25%. **Conclusion** The method is accurate, specific, and could be used for the quality control of Compound *Chuanxiong Rhizoma* Pills.

Key words: Compound *Chuanxiong Rhizoma* Pills; ferulic acid; thin layer chromatography; high performance liquid chromatograph

复方川芎滴丸以川芎、当归组方, 方中川芎性温, 味辛, 富含苯胺类、酚酸类、生物碱类。功能活血行气、祛风止痛, 主治血瘀气滞所致月经不调、痛经经闭、肝郁气滞而致血行不畅的胸胁疼痛、头痛、风寒湿痹、跌打肿痛等疾病^[1], 为君药。当归性温, 味甘、辛, 富含黄酮类、酚酸类、内酯类、苯胺类、多糖类^[2-3], 功能补血活血、调经止痛、润肠通便, 主治血虚萎黄、眩晕心悸、月经不调、经

闭痛经、虚寒腹痛、风湿痹痛、跌扑损伤、痈疽疮疡、肠燥便秘^[4], 为臣药。二药作为复方川芎滴丸的药用成分, 能够活血行气、祛风止痛、镇静解痉, 用于预防和治疗冠脉循环功能不全, 脑动脉硬化。为了更好地控制该制剂的质量, 本实验利用高效液相色谱 (HPLC) 法建立了该制剂的质量标准, 对制剂中当归、川芎进行薄层色谱定性鉴别, 并对制剂中主要成分阿魏酸进行了定量研究。

收稿日期: 2014-07-10

基金项目: 军队医疗机构制剂标准提高科研专项重点课题 (13ZJZ02)

作者简介: 肖婷 (1989—), 女, 在读硕士研究生, Tel: 15840268187 E-mail: tingjinxiao@163.com

*通信作者 赵余庆, 教授, 主要从事天然活性成分的发现与构效关系研究。Tel/Fax: (024)23986521 E-mail: zyuq4885@126.com

史国兵, 主任药师, 研究方向为临床药学。Te: (024)28856262 E-mail: sysgb@126.com

1 仪器与试剂

LC3000 型高效液相色谱仪(创新通恒,二元梯度泵,UV检测器,CXTH—3000工作站),色谱柱为 YMC-Pack ODS-A (AA20S11-2546WT, 250 mm×4.6 mm, 10 μm), RPL—D2000 柱温箱(大连日普利科技仪器有限公司), UV—1700 岛津紫外可见分光光度计, BT125D 电子天平(十万分之一,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司), HH—S2 恒温水浴锅(郑州长城科工贸有限公司)。阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,供含量测定用,批号 110773-201012); 川芎对照药材(中国食品药品检定研究院,批号 120918-200406)、当归对照药材(中国食品药品检定研究院,批号 120927-201014); 复方川芎滴丸(舒脑心滴丸)(中国人民解放军第88医院,山东泰安,批号 130426、130522、130531); 甲醇(天津市康科德科技有限公司,色谱纯); 醋酸(天津市百世化工有限公司,分析纯); 磷酸(沈阳沈一精细化学品有限公司,分析纯); 乙腈(天津市康科德科技有限公司,色谱纯); 水为超纯水。

2 方法与结果

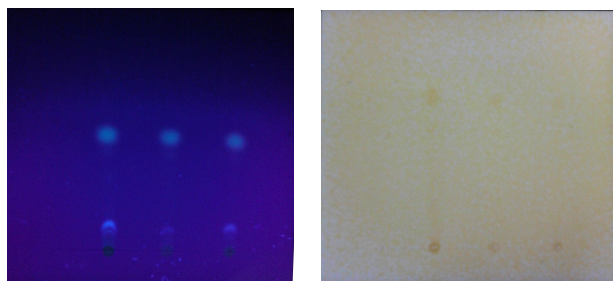
2.1 当归、川芎的薄层色谱鉴别

取本品5粒,研细,加石油醚5 mL 超声溶解,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇1 mL 溶解,作为供试品溶液。另取当归、川芎对照药材各2 g,置具塞烧瓶中,加乙醚25 mL,超声提取20 min,滤过,滤液置水浴上蒸干,残渣加无水乙醇1 mL 溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VIB)试验,分别吸取上述3种溶液各5 μL,分别点于同一以0.5%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶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。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的蓝色荧光斑点;再喷以改良碘化铋钾试液,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同的橙黄色斑点,见图1。

2.2 阿魏酸定量研究

2.2.1 条件选择

1)测定波长的考察 精密称取阿魏酸对照品适量,甲醇溶解,制成1 μg/mL 溶液,以甲醇为空白,在紫外可见分光光度计在200~700 nm 波长下进行扫描。结果,阿魏酸在321 nm 处有较强吸收,参照《中国药典》2010年版一部药材和饮片川芎中阿



1-当归、川芎阴性样品; 2-川芎对照药材; 3-当归对照药材; 4-供试品溶液

1- negative sample solutions of *Chuanxiong Rhizoma* and *Angelica sinensis*; 2- contrast medicinal materials of *Chuanxiong Rhizoma*; 3- contrast medicinal materials of *Angelica sinensis*; 4- sample solutions

图1 复方川芎滴丸中当归、川芎的薄层色谱鉴别

Fig. 1 TLC of *Angelica sinensis* and *Chuanxiong Rhizoma*

魏酸的 HPLC 检测波长为 321 nm^[5], 故选择 321 nm 为检测波长进行测定。

2) 流动相的选择 本实验阿魏酸样品采用 4 个不同系统的流动相: 乙腈-0.1%磷酸(22:78)^[6]、乙腈-1%冰醋酸(30:70)^[5]、甲醇-0.1%磷酸(40:60)^[7]、甲醇-1%冰醋酸(30:70)进行测定, 同时考察各系统不同组成比例的流动相, 结果流动相为甲醇-1%醋酸(30:70)时阿魏酸出峰时间适中, 约 16 min, 分离度好。柱温 30 ℃, 体积流量 1.0 mL/min, 理论塔板数按阿魏酸峰计不低于 3 000。

3) 提取方法的选择 取同一批样品(130522)共4份, 各0.170 1 g, 分别精密称定, 放入50 mL 圆底烧瓶中, 精密加入70%甲醇50 mL, 称质量, 其中两份加热回流30 min, 另两份超声处理30 min, 放冷, 用70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。在流动相甲醇-1%醋酸(30:70)色谱条件下测定样品中阿魏酸峰面积, 得到超声提取样品中阿魏酸平均质量分数为7.146 5 mg/g, 加热回流提取为7.755 5 mg/g。结果显示, 回流提取测得样品的阿魏酸质量分数高于超声处理的样品, 故将加热回流提取方法定为提取方式。

4) 提取时间的选择 取同一批样品(130522), 共6份, 各0.172 1 g, 精密称定, 置于圆底烧瓶中, 精密加入70%甲醇50 mL, 称定质量, 分别加热回流15(2份)、30(2份)、45 min(2份), 放冷, 用70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。在流动相甲醇-1%醋酸(30:70)色谱条件下测定样品中阿魏酸, 得到加热回流提取15 min 样品中阿魏酸平均质量分数为7.208 9 mg/g, 30 min 为7.755

5 mg/g, 45 min 为 6.877 1 mg/g。结果显示, 提取时间为 30 min, 均比其他两个时间段阿魏酸质量分数高, 故将提取时间定为 30 min。

5) 提取溶剂的选择 取同一批样品(130522)共 6 份, 各 0.170 3 g, 精密称定, 置于圆底烧瓶中, 精密加入 50% (2 份)、70% (2 份)、100% (2 份) 甲醇各 50 mL, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 分别用 50%、70%、100% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。在流动相甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件下测定阿魏酸, 得到 50% 甲醇提取样品中阿魏酸平均质量分数为 7.070 5 mg/g, 70% 甲醇为 7.755 5 mg/g, 100% 甲醇为 6.999 4 mg/g。结果显示, 提取溶剂为 70% 甲醇时, 测得的样品中阿魏酸质量分数较高, 故选择 70% 甲醇为提取溶剂。

6) 提取溶剂量的选择 取同一批样品(130522)共 6 份, 各 0.170 9 g, 精密称定, 至于圆底烧瓶中, 分别加入 70% 甲醇 30 (2 份)、50 (2 份)、70 mL (2 份), 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。在流动相为甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件下测定样品中阿魏酸峰面积, 得到 30 mL 甲醇提取样品中阿魏酸平均质量分数为 5.626 2 mg/g, 50 mL 为 6.164 3 mg/g, 70 mL 为 5.866 8 mg/g。结果显示, 提取溶剂用量为 30、50、70 mL 时阿魏酸质量分数相差不大, 50 mL 时样品浓度较为适中, 故将提取溶剂用量定为 50 mL。

7) 提取次数的选择 取同一批样品(130522), 共 6 份, 各 0.170 7 g, 精密称定, 置于圆底烧瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 称定质量, 分别加热回流提取 1 (2 份)、2 (2 份)、3 次 (2 份), 放冷, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。在流动相甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件下测定样品中阿魏酸峰面积, 得到提取 1 次样品平均质量分数为 5.633 9 mg/g, 2 次为 5.521 4 mg/g, 3 次为 5.522 2 mg/g。结果显示, 提取次数为 1 次时, 与 2 次、3 次相差不大, 故将提取次数定为 1 次。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密取阿魏酸对照品 2.000 0 mg, 加入 70% 甲醇定容至 100 mL, 制成 0.020 0 mg/mL 的对照品溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取 3 批样品各 0.170 4 g, 精密称定, 至于圆底烧瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 用

70% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.4 阴性对照液制备 取缺少当归和川芎的处方药, 按制备工艺制得样品, 再按“2.3”项下供试品溶液的制备方法, 制得阴性样品溶液。

2.2.5 方法学考察

1) 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液进样 20 μ L, 结果显示供试品中各待测成分色谱峰的分离度均大于 1.5, 其他杂质峰及空白溶液对待测成分均无干扰, 见图 2。

2) 不同色谱柱的考察 选用 3 种不同的色谱柱, 即 YMC-Pack ODS-A (AA20S11-2546WT, 250 mm $\times$ 4.6 mm, 10 μ m)、TC-C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm,

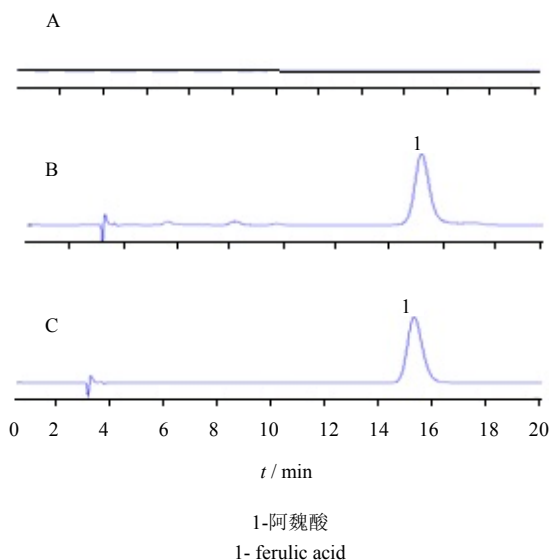


图2 阴性对照品(A)、供试品溶液(B)、对照品品溶液(C) HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC of negative sample (A), Compound Chuanxiong Rhizoma Pills sample (B), and reference substances (C)

5 μ m)、HC-C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 按甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件分析, 记录样品中阿魏酸色谱图, 结果显示, 各色谱柱均分离效果良好, 且理论塔板数均大于 3 000。

3) 线性关系的考察 精密取阿魏酸对照品 2.000 0 mg 于 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解定容至刻度, 制成 0.200 0 mg/mL 对照品溶液, 再精密量取适量对照品溶液配成 0.001、0.002、0.005、0.010、0.020、0.050、0.100 mg/mL 的阿魏酸对照品溶液, 分别进样 20 μ L, 按甲醇-1%醋酸色谱条件分析, 测定各自峰面积, 以对照品质量浓度为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 绘制标准曲线。计算回归方程为

$Y=8.7 \times 107X+39\ 031$, $r=0.999\ 5$ 。结果表明阿魏酸在 0.001~0.1 mg/mL 与峰面积呈线性关系。

4) 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 (130522) 20 μ L, 按甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱条件测定的峰面积, 计算峰面积值的 RSD 值为 1.50%。

5) 重复性试验 精密称取同一批样品 (130522) 6 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别测定各样品中阿魏酸的质量分数。计算样品中阿魏酸平均质量分数的 RSD 值为 1.85%。

6) 稳定性试验 取同一批样品 (130522) 2 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件分析, 分别在 0、2、4、6、8、10、12 h, 测定样品中阿魏酸峰面积, 计算样品中阿魏酸峰面积值的 RSD 值为 1.95% ($n=7$), 表明阿魏酸在 12 h 内稳定。

7) 加样回收率试验 精密称取同一批样品 (130522) 0.085 0 g (共 6 份), 分别加入 0.200 0 mg/mL 阿魏酸对照品溶液各 2.43 mL, 称定质量, 再按照“2.3”供试品溶液制备方法, 制成回收率供试品溶液, 按甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件分析, 计算回收率, 结果平均回收率为 102.06%, RSD 值为 2.25% ($n=6$)。

2.2.6 样品测定 取 3 批样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按甲醇-1%醋酸 (30:70) 色谱条件, 采用外标法计算, 测定 3 批样品中阿魏酸的量。结果见表 1。

3 结论

在原部队制剂标准中, 当归、川芎的薄层验证中样品取样量为 2 粒, 对照药材取样量为 1 g 时, 浓度太小影响荧光斑点的呈点性, 故将取样量改为

表 1 复方川芎滴丸中阿魏酸的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of ferulic acid in Compound Chuanxiong Rhizoma Pills ($n=2$)

批号	阿魏酸 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
130426	7.885 1
130522	5.677 8
130531	5.374 5

5 粒, 对照药材取样量为 2 g, 斑点呈点清晰。修订后的当归、川芎薄层鉴别方法专属性及重复性良好, 故将标准草案中的当归、川芎薄层鉴别方法进行了修订。同时以阿魏酸为对照品, 改进了阿魏酸的含

量测定方法, 首次运用了 HPLC 法对复方川芎滴丸中的阿魏酸进行了定量。

在波长选择中, 进行了紫外扫描, 确定了阿魏酸在 321 nm 处有最大吸收, 同时参考相关文献, 确定本实验中阿魏酸的检测波长为 321 nm。根据指标性成分的理化性质和色谱行为, 比较了不同流动相、提取方式、提取时间、提取溶剂、提取溶剂用量和提取次数对样品中阿魏酸的影响, 以当归和川芎中的阿魏酸为指标, 优选了最佳提取制备工艺。结果显示, 制备工艺方法简单可靠, 具有科学性和可行性。

有关 HPLC 法测定阿魏酸的方法已有报道^[8-10], 但尚未有复方川芎滴丸中阿魏酸定量研究的文献报道。本实验在原有利用薄层色谱法测定阿魏酸的基础上, 首次采用 HPLC 法测定了复方川芎滴丸不同批次样品中阿魏酸的量, 结果显示阿魏酸的测定更准确, 建立了一种快速测定复方川芎滴丸中阿魏酸的方法, 通过线性关系考察, 证明线性关系良好、重复性、重现性、稳定性、回收率均符合要求, 为制订其质量标准提供了参考, 修订后的质量标准, 提高了药品的质量控制水平。

参考文献

- [1] 柳永青. 当归的化学成分与生物活性 [J]. 航空航天医药, 2009, 20(11): 127-128.
- [2] 宋秋月, 付迎波, 刘江, 等. 当归的化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1900-1904.
- [3] 舒冰, 周重建, 马迎辉, 等. 中药川芎中有效成分的药理作用研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22(9): 1043-1047.
- [4] 李秋怡, 干国平, 刘焱文. 川芎的化学成分及药理研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7): 1298-1299.
- [5] 中国药典 [M]. 一部. 2010.
- [6] 王中华. 当归中阿魏酸含量测定及质量标准的研究 [J]. 河北中医, 2012, 34(7): 1058-1063.
- [7] 丛竹凤. 穹芷滴丸的研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2002.
- [8] 莫亚雄, 杜利云. 高效液相色谱法测定柏子养心片中阿魏酸的含量 [J]. 云南中医中药杂志, 2011, 32(1): 58-59.
- [9] 周永其, 胡道德, 刘亮, 等. 灵杞黄斑颗粒中阿魏酸含量测定 [J]. 医药导报, 2012, 31(2): 224-226.
- [10] 陈卉, 陈燕忠, 谢清春, 等. 舒胸脉冲控释滴丸中阿魏酸和羟基红花黄色素 A 的测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 92-94.