

# 活血止痛颗粒剂质量标准的实验研究

杨桦 易红 马振山 王兴文 王红云 王宏洁

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

**摘要** 采用薄层色谱法对活血止痛颗粒剂中川芎、益母草、甘草进行定性鉴别;应用高效液相色谱法对制剂中所含当归和川芎的有效成分阿魏酸的含量测定方法进行了研究。

**关键词** 活血止痛颗粒剂 定性鉴别 阿魏酸 含量测定

## Study on Quality Standard of Huoxue Zhitong Granules

Yang Hua, Yi Hong, Ma Zhenshan, Wang Xingwen, Wang Hongyun, Wang Hongjie

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

**Abstract:** The qualitative identification of rhizoma chuanxiong, herba leonuri, radix glycyrrhizae was determined in Huoxue Zhitong granules by TLC. The content of ferulic acid in the granules was determined by HPLC.

**Key words:** Huoxue Zhitong granules, qualitative identification, content determined, ferulic acid

活血止痛颗粒剂由当归、川芎、益母草、甘草等7味中药组成,具有活血化瘀、温经止痛的功能。为了控制制剂的内在质量,采用薄层色谱法对其中川芎、益母草、甘草进行定性鉴别,并应用高效液相色谱法对制剂中当归和川芎所含有效成分阿魏酸的含量测定方法进行了研究。结果表明,采用本文定性定量方法,可较严格地控制制剂的内在质量。

### 1 仪器与试剂、样品

LC-3A 高压液相色谱仪;C-EIB 数据处理机;SPD-2A 紫外检测器(均为日本岛津产)。阿魏酸(上海试剂三厂),含量99%以上;盐酸水苏碱对照品购于中国药品生物制品检定所;川芎、甘草对照药材购于北京市药材公司,经本所标本室鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum Chuanxiong Hort.* 的干燥根茎,豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis Fish* 的干燥根及根茎。活血止痛颗粒剂(本室研制品),批号951012、951101、951103。实验所用试剂甲醇为优级纯,其余均为分析纯。

### 2 定性鉴别

**2.1 川芎的鉴别** 取样品和缺川芎阴性对照样品各7g,川芎对照药材1g,分别加50%甲醇20ml,超声提取30min,滤过,滤液浓缩至干。残渣加水30ml使溶解,用乙醚萃取2次,每次30ml。萃取液合并,浓缩至干。残渣加1ml乙醚溶解,分别制得供试品溶液、川芎阴性对照液和川芎药材对照液。吸取上述3种溶液各10 $\mu$ l,分别点于同一硅胶GF<sub>254</sub>薄层板上,以苯:氯仿:冰醋酸(6:5:1)为展开剂,于紫外灯(254nm)下检视,供试品溶液与川芎对照药材在相应的位置上显棕色斑点。阴性对照液在相应位置上无斑点。见图1。

**2.2 甘草的鉴别** 取样品和缺甘草阴性对照样品各5g,各加水10ml使溶解,置分液漏斗中,用乙酸乙酯提取2次,每次10ml,合并提取液,浓缩至干。残渣加甲醇1ml使溶解,作为供试品溶液和阴性对照液。另取甘草对照药材1g,加水煎煮2次,合并煎液,按上述供试品溶液制法制得甘草对照药材溶液。吸

取上述 3 种溶液各 10 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇 : 醋酸 : 水 (7 : 2 : 1) 为展开剂, 展开 10cm, 取出晾干, 喷以 50% 硫酸甲醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 烘至斑点清晰。结果样品供试品溶液与甘草对照药材溶液在相应的位置上显相同的橙黄色斑点。阴性对照品溶液在相应位置上无斑点。见图 2。

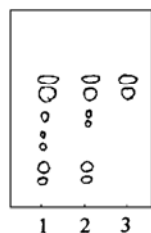


图 1 活血止痛颗粒剂中川芎的 TLC 图谱

1. 供试品溶液
2. 川芎对照液
3. 阴性对照液

**2.3 益母草的鉴别** 取样品与缺益母草的阴性样品各 60g, 分别置索氏提取器中, 加乙醇乙酯 300ml, 加热回流 4h, 弃去提取液, 残渣挥净乙酸乙酯。加乙醇 300ml, 回流提取 4h, 提取液浓缩至无醇味, 加适量 0.1NHCl 使溶解, 滤过, 滤液加入饱和雷氏盐溶液适量, 冰箱放置 1h, 用 G4 垂熔漏斗滤过。沉淀用丙酮溶解, 丙酮液中加入 0.5% Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 适量, 滤过, 滤液浓缩至 1ml, 加于已处理好的中性氧化铝柱 (200 目, 内径 20mm) 上, 用 70% 乙醇 60ml 洗脱, 洗脱液浓缩至干, 用乙醇 1ml 溶解, 分别作为供试品溶液和阴性对照液。另取盐酸水苏碱对照品适量, 加乙醇制成每 ml 含 5mg 的溶液作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇 : 盐酸 : 乙酸乙酯 (4 : 1.5 : 0.5) 为展开剂, 展开 15cm, 晾干后喷以稀碘化铋钾溶液。日光下观察, 供试品溶液与盐酸水苏碱对照品在相应的位置上显相同的桔红色斑点。阴性对照液在相应位置上无斑点。见图 3。

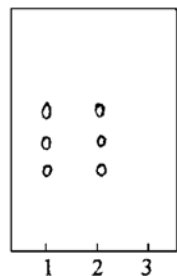


图 2 活血止痛颗粒剂中甘草的 TLC 图谱

1. 供试品溶液
2. 甘草药材对照液
3. 阴性对照液

**3 含量测定**

**3.1 色谱条件** 色谱柱: 以十八烷基硅烷键

合硅胶 (10 $\mu$ m) 为填料 (4.6 $\times$ 25mm); 流动相: 甲醇 : 3% 醋酸 (30 : 80); 流速 1.5ml/min; 检测波长 320nm; 理论塔板数 8000 以上。

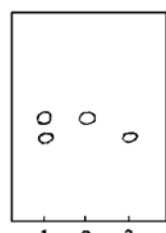


图 3 活血止痛颗粒剂中益母草的 TLC 图谱

1. 供试品溶液
2. 盐酸水苏碱对照品
3. 阴性对照液

**3.2 对照品溶液的配制** 精密称取阿魏酸适量, 加甲醇制成 0.023mg/ml 的溶液作为对照品溶液。

**3.3 线性关系考察** 精密吸取对照品 5、10、15、20、25 $\mu$ l 分别注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 对照品量为横坐标, 计算回归方程为  $Y = 43205x - 35.2$ ,  $r = 0.9999$ , 表明阿魏酸在 0.1 $\mu$ g~0.5 $\mu$ g 范围内呈线性关系。



图 4 活血止痛颗粒剂的 HPLC 图谱

1. 阿魏酸对照品
2. 供试品
3. 空白对照

**3.4 供试品溶液的制备** 精密称取颗粒剂 0.5g, 置索氏提取器中, 加入水饱和的乙酸乙酯 60ml, 加热回流提取 0.5h。提取液水浴蒸干, 残渣以甲醇定容至 5.0ml。以 0.45 $\mu$ m 的微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

**3.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 10 $\mu$ l, 重复进样 5 次, 阿魏酸峰面积积分值的相对标准偏差为 1.47%。

**3.6 稳定性试验** 取供试品溶液在 12、24、48、72h 分别进样 10 $\mu$ l, 结果阿魏酸的峰面积的 RSD 为 1.38%, 表明供试品溶液在 3d 内稳定。

**3.7 空白对照试验** 取缺当归和川芎的颗粒剂, 按上述供试品溶液制备法制备, 作为空白对照液。分别吸取阿魏酸对照品溶液, 供试品溶液和空白对照液各 10 $\mu$ l, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定。结果表明, 在阿魏酸出峰位置处无干扰峰。见图 4。

**3.8 回收率试验** 采用加样回收法,精密称取已知含量的样品,精密添加不同量的阿魏酸对照品,按上法处理,测定并计算。结果表明本法回收率能达到要求,方法可行。

表1 回收率试验结果

样品号	样品阿魏酸量(mg)	添加阿魏酸量(mg)	测出阿魏酸量(mg)	回收率%
1	0.1316	0.117	0.2500	101.2
2	0.1313	0.117	0.2562	106.7
3	0.1325	0.234	0.3673	100.3
4	0.1325	0.234	0.3622	98.2

注: $\bar{x}=101.6\%$   $RSD=3.6\%$

**3.9 样品测定:**按上法测定3批样品中阿魏酸的含量。测定结果见表2。

表2 样品测定结果

批号	阿魏酸(mg/g, n=3)	RSD%
951012	0.327	3.3
951101	0.319	3.0
951103	0.330	2.6

## 4 讨论

**4.1** 采用本文定性方法,可检出样品中含有川芎、甘草和益母草3味中药。由于本文中同时含有当归和川芎,而阿魏酸是二者共有的成分,故不能用阿魏酸作为鉴别的指标。经实

验摸索在多种TLC条件下,当归与川芎均没有明显的区别特征。本文川芎的鉴别方法是多次试验的基础上建立的,可以在当归和川芎共同存在的情况下检出川芎。但检出当归的方法未能建立。

**4.2** 含量测定中有关供试液的制备,曾分别应用不同的溶剂和不同的提取方法进行多次试验,结果以用水饱和的乙酸乙酯回流提取效果最好。回流提取的时间半小时和1h基本无差别,故选用半小时以节约时间。

## 参考文献

- 1 陈汉平,刘素香,李桂海,等. 高效液相色谱法测定当归及其炮制品中阿魏酸的含量. 中草药, 1988(10):15
- 2 黄宗王,王小明. 反相高效液相色谱法测定当归调经露中阿魏酸. 中成药,1991(8):11
- 3 姚永珍,崔晓光,高玉香,当归浸膏片中阿魏酸含量比较研究. 药物分析杂志,1994(1):53
- 4 王宝琴. 中成药质量与标准物质研究. 北京:中国医药科技出版社,1994. 382,390

(收稿:1997-08-27)