

逐步代入勾兑法在当归药材质量均一性中的应用

段奕倩¹, 魏惠珍¹, 刘晟楠¹, 殷文静¹, 金浩鑫², 吴柳瑾², 游梦², 饶毅^{1,2*}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 采用 HPLC 测定当归药材中阿魏酸的含量, 同时建立其指纹图谱, 探索原药材与药材粉末勾兑后阿魏酸含量及指纹图谱的差异, 寻找使药材质量达到均一的途径。方法: 阿魏酸含量以《中国药典》标准的 130% 为含量的勾兑目标, 测定 9 批不同批次当归及勾兑后 10 批药材的含量; 以 9 批不同批次的当归生成的对照指纹图谱作为勾兑后药材的参照指纹图谱, 建立它们的指纹图谱。结果: 勾兑后, 含量结果与目标值接近, 偏差在 $\pm 10\%$ 以内, 勾兑后的指纹图谱相似度均在 0.980 以上。结论: 不同批次药材通过逐步代入法勾兑可使指标成分含量接近目标值且指纹图谱相似度趋于一致, 显著提高药材的质量均一性。该方法准确度高、操作简便, 不使用复杂数学软件, 可作为中药材勾兑的新方法。

[关键词] 逐步代入法; 勾兑; 阿魏酸; 当归

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)16-0062-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016160062

Application of Stepwise Blending Method in Quality Consistency of Angelicae Sinensis Radix

DUAN Yi-qian¹, WEI Hui-zhen¹, LIU Sheng-nan¹, YIN Wen-jing¹, JIN Hao-xin²,
WU Liu-jin², YOU Meng², RAO Yi^{1,2*}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China;
2. National Engineering Research Center of Solid TCM Preparation Production
Technology, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To determine ferulic acid in Angelicae Sinensis Radix by HPLC, while establishing their fingerprints to explore differences in ferulic acid content and fingerprint between the original drugs and the medicinal powder after the blending, in order to find ways to standardize the quality of drugs. **Method:** The blending target for ferulic acid is 130% according to pharmacopoeia standards. The reference fingerprint is based on nine different batches of Angelicae Sinensis Radix. Fingerprints and ferulic acid data were collected after the blending. **Result:** After blending, content result was close to the target, with a deviation of less than $\pm 10\%$, and the fingerprint similarity after the blending was above 0.980. **Conclusion:** After different batches of pieces were processed by stepwise blending method, the index component content was close to the target, and fingerprint similarity became consistent, indicating that the quality consistency of Chinese materia medica increased significantly. The method was accurate and simple, with no need to use complexity mathematical software, and so can be used as a new method for blending Chinese materia medica pieces.

[Key words] stepwise blending method; blending; ferulic acid; Angelicae Sinensis Radix

饮片质量稳定是保证药品临床治疗效果的前提, 指标成分含量稳定是药材质量稳定的关键表

[收稿日期] 20150803(017)

[基金项目] 中医药行业科技专项(201307009)

[第一作者] 段奕倩, 硕士, 从事药物分析研究, Tel: 13247704767, E-mail: 375683001@qq.com

[通讯作者] * 饶毅, 博士, 教授, 从事中药分析研究, Tel: 13807041192, E-mail: raoyi99@126.com

征^[1]。中药材的勾兑是指将不同批次的药材按照一定比例重新进行混合,进而使药材中各成分在批次间的差异减小的过程。目前已有的勾兑研究基本基于酒类生产进行,通过不同批次原酒的勾兑生产出香味合格的成酒^[2]。与酒类的生产状况类似,不同批次的药材药效成分含量亦各有差异,如当归原药材^[3],有的当归批次中有效成分含量较高,有的则低于药材标准,其他许多中药材亦存在这种状况。而药材中药效成分的多少及各成分之间的比例关系都影响到药材的质量。若能对药材进行勾兑则可以取长补短,使含量高的药材与含量低的药材相互搭配,有可能成为成分含量或比例合格的药材,使药材质量调整到均一水平。

目前多采用勾兑法调节药材均一性,孙国祥等^[4]以玄参-地黄渗漉液指纹图谱中 17 个共有峰峰面积为指标,采用双定性双定量法计算勾兑系数;杨铭等^[5]以秦皮指纹图谱中 9 个共有峰峰面积为指标,采用遗传算法进行勾兑;刘永锁等^[6]以栀子指纹图谱中 7 个共有峰峰面积为指标,采用非线性最小二乘拟合法计算勾兑系数;以上方法均需使用复杂的数学知识,难以在产业界推广,本实验运用了逐步代入法进行勾兑,仅需简单的加减乘除就可得到多指标成分药材的勾兑比例,非常适用于工业生产。

本文通过测定当归原药材和药材粉末勾兑后的含量并建立它们的指纹图谱,比较勾兑前后的含量及指纹图谱的差异,尝试通过勾兑方法使药材质量达到均一性的可能。具体将以《中国药典》标准中阿魏酸含量限量的 130% 作为勾兑目标,通过勾兑计算软件确定勾兑比例,测定阿魏酸的含量,同时建立指纹图谱。

1 材料

KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),1/万电子精密天平(梅特勒-托利多),AUW220D 型 1/10 万电子精密天平(日本岛津),LC 20AD 型高效液相色谱仪(日本岛津),2695-2996 型高效液相色谱仪(美国 Waters)。

阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110773-201313,含量测定用,纯度 >99.6%),甲醇色谱级纯,乙腈,磷酸优级纯。

9 批当归饮片均为市售,经江西中医药大学钟国越教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根,见表 1。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取当归饮片,打粉,过三

表 1 9 批当归饮片的批号及购买地

Table 1 Batch numbers and purchase of 9 *Angelicae Sinensis Radix*

No.	批号	购自于
1	20140717	江西省普正药业
2	20140726	江西省普正药业
3	20140830	江西省普正药业
4	20141015	江西省普正药业
5	20140905	江西省普正药业
6	20150313	南昌庆云堂中医馆
7	101201	江西敦寿堂国药有限公司
8	0101209	南昌开心人大药房
9	20150120	南昌昌帮中药行

号筛,取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加 70% 甲醇 20 mL,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液滤过,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.2 对照品溶液制备 取阿魏酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加 70% 甲醇制成 0.014 4 g·L⁻¹ 的溶液。

2.3 含量测定色谱条件 Welch Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.085% 磷酸水溶液(17:83),流速 1.0 mL·min⁻¹,进样体积 10 μL,检测波长 316 nm,柱温室温。

2.4 指纹图谱色谱条件 Welch Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.085% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 30 min, 85% ~ 70% B; 30 ~ 35 min, 70% ~ 40% B; 35 ~ 60 min, 40% ~ 10% B; 60 ~ 65 min, 10% B),流速 0.8 mL·min⁻¹,进样体积 10 μL,检测波长 270 nm,柱温室温。

2.5 原理 药材勾兑的基本原理为药材中每种成分含量的线性加和性,见公式(1)。

$$S = \sum bi Si (bi \geq 0) \quad (1)$$

式中 S 为勾兑后某一成分含量; Si 为勾兑前每批次饮片中该成分含量; bi 为每批次饮片的勾兑比例。当目标成分为 1 个,饮片批次为 2 批时,公式(1)可简化为公式(2)。

$$S = S1 \times b1 + S2 \times b2 \text{ 且 } b1 + b2 = 100\% \quad (2)$$

式中 S 为勾兑后成分含量; S1 和 S2 分别为勾兑前第 1 和 2 批饮片中该成分的含量; b1 和 b2 分别为第 1 批和第 2 批饮片的勾兑比例^[3]。逐步代入法以公式(2)为基础,以 3 个指标成分为例,先以第

1 个成分 S1 为指标,计算 2 批间的勾兑比例 b_1 和 b_2 ,将 8 批饮片勾兑成 4 批饮片,此时所有勾兑后的饮片第 1 个成分含量都相同;再以第 2 个成分为指标,计算 2 批间的勾兑比例,将 4 批饮片勾兑成 2 批饮片,此时第 2 个成分含量也都相同;逐步勾兑,使所有 3 个成分的含量均相同。

2.6 阿魏酸的含量测定 根据 2.1 项下方法制备供试品溶液,按照 2.2 项下色谱条件采集高效液相色谱图,分别精密吸取参照物和供试品溶液各 10 μL ,重复进样 2 次,注入液相色谱仪,计算含量,勾兑前与勾兑后阿魏酸的含量结果见表 2。

2.7 指纹图谱检测 按 2.1 项下方法制备供试品溶液,依法检测,导出指纹图谱用 2012 年版“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”计算相似度,所得指纹图谱信息见图 1,2,表 3。

表 2 勾兑前后阿魏酸的质量分数

		阿魏酸	偏差
		%	
勾兑前	当归(20140717)	0.140	
	当归(20140726)	0.047	
	当归(20140830)	0.062	
	当归(20141015)	0.077	
	当归(20140905)	0.082	
	当归(20150313)	0.059	
	当归(101201)	0.066	
	当归(0101209)	0.095	
	当归(20150120)	0.071	
	勾兑目标	0.065	
勾兑后	勾兑 1	0.062	-5.35
	勾兑 2	0.067	2.73
	勾兑 3	0.071	8.69
	勾兑 4	0.071	8.50
	勾兑 5	0.063	-3.22
	勾兑 6	0.067	2.35
	勾兑 7	0.060	-7.90
	勾兑 8	0.065	0.15
	勾兑 9	0.065	-0.58
	勾兑 10	0.066	1.58

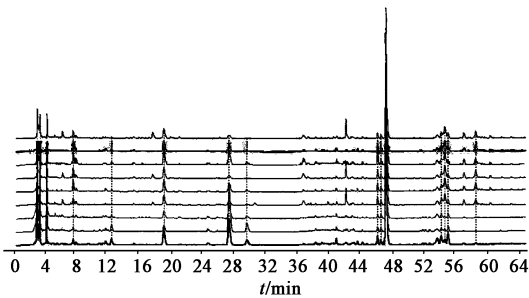


图 1 9 批勾兑前当归药材指纹谱对比

Fig.1 Fingerprint of 9 batches of angelica herbs before blending

表 3 各批次当归相似度

Table 3 Angelicae Sinensis Radix similarity across batches

批号	20140717	20140726	20140830	010121	20140905	20150120	20140905	20141015	20150313	R
20140717	1.000	0.745	0.875	0.983	0.860	0.745	0.802	0.745	0.915	0.957
20140726	0.745	1.000	0.875	0.670	0.859	1.000	0.863	1.000	0.514	0.683
20140830	0.875	0.875	1.000	0.860	0.975	0.875	0.700	0.873	0.689	0.757
010121	0.983	0.670	0.860	1.000	0.846	0.670	0.715	0.670	0.925	0.931
20140905	0.860	0.859	0.975	0.846	1.000	0.859	0.690	1.000	0.675	0.743
20150120	0.745	1.000	0.875	0.670	0.859	1.000	0.863	0.894	0.514	0.683
20140915	0.802	0.863	0.700	0.715	0.690	0.863	1.000	1.000	0.684	0.852
20141015	0.745	1.000	0.873	0.670	1.000	0.894	1.000	0.873	0.581	0.741
20150313	0.915	0.514	0.689	0.925	0.675	0.514	0.684	0.581	1.000	0.956

由 9 批当归原药材指纹图谱所生成的对照图谱作为勾兑后药材指纹图谱的参照,计算相似度,其指纹图谱信息见图 3,相似度计算结果,见表 4。

3 讨论

9 批原当归药材含量之间差异较为明显,按勾兑比例混合各批次药材粉末,10 批勾兑后的药材含量均达到理论目标值的正负偏差 10% 以内,批次间

阿魏酸含量差异减小,说明通过逐步代入勾兑法可得到与目标含量一致的药材勾兑比例。

9 批原当归药材指纹图谱间有差异,尤其是 20150120 批次,经过勾兑后,药材指纹图谱相似度提高,均在 0.980 以上,并且批次间更为接近,说明通过逐步代入勾兑法可得到与目标饮片相似度高的药材勾兑比例,值得在业界推广。

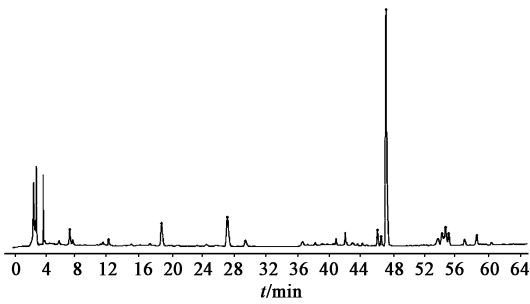


图 2 当归对照指纹谱(R)

Fig. 2 Comparison of Angelicae Sinensis Radix fingerprint(R)

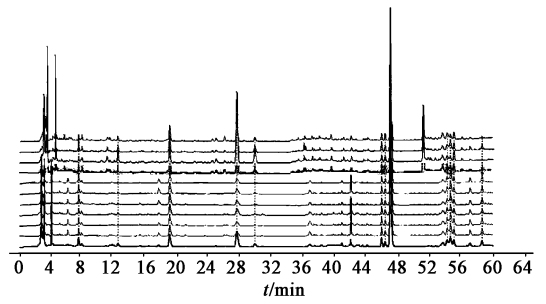


图 3 勾兑后 10 批当归药材指纹谱对比

Fig. 3 Fingerprints of 10 batches of Angelicae Sinensis Radix after blending

表 4 勾兑后 10 批当归药材相似度

Table 4 Similarity of 10 batches of Angelicae Sinensis Radix after blending

药材	对照	配 1	配 2	配 3	配 4	配 5	配 6	配 7	配 8	配 9	配 10	R
R	1	0.995	0.989	0.992	0.994	0.990	0.990	0.996	0.991	0.992	0.990	1
配 1	0.995	1	0.957	0.993	1	0.978	0.978	0.988	0.979	0.980	0.979	0.996
配 2	0.989	0.917	1	0.946	0.926	0.929	0.989	0.957	0.933	0.987	0.983	0.982
配 3	0.992	0.993	0.946	1	0.994	0.964	0.964	0.976	0.967	0.998	0.996	0.992
配 4	0.994	1	0.926	0.994	1	0.974	0.974	0.985	0.974	0.976	0.974	0.995
配 5	0.990	0.978	0.929	0.964	0.974	1	1	0.998	1	1	0.999	0.989
配 6	0.990	0.978	0.989	0.964	0.974	1	1	0.998	1	1	0.999	0.989
配 7	0.996	0.988	0.957	0.976	0.985	0.998	0.998	1	0.998	0.999	0.998	0.995
配 8	0.991	0.979	0.983	0.967	0.974	1	1	0.998	1	1	1	0.990
配 9	0.992	0.980	0.937	0.998	0.976	1	1	0.999	1	1	1	0.991
配 10	0.990	0.979	0.983	0.996	0.974	0.999	0.999	0.998	1	1	1	0.990

[参考文献]

[1] 刘永锁,曹敏,陈玉英,等. 中药材提取物的混批勾兑研究[J]. 色谱, 2006, 24(2): 117-121.

[2] 王彬,黄河舟,朱臻宇,等. 淫羊藿药材 HPLC 指纹图谱的勾兑研究[J]. 药学实践杂志, 2008, 26(6): 432-434.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 124.

[4] 孙国祥,史香芬,王真. 用双定性双定量混批勾兑技术控制玄参-地黄渗漉液质量[J]. 中南药学, 2008, 6(4): 470-474.

[5] 刘永锁,曹敏,陈玉英,等. 中药材提取物的混批勾兑研究[J]. 色谱, 2006, 24(2): 117-121.

[6] 杨铭,周寅敏,陈佳蕾,等. 遗传算法在秦皮提取液混批勾兑中的应用[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(20): 2594-2598.

[7] 张继东. HPLC 法测定当归片中阿魏酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(10): 1979-198.

[8] 倪立军,郭佳,曾晓虹,等. 指纹图谱评价中药质量的方法学考证[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(2):

116-119.

[9] 张敏,胡坪,罗国安,等. 当归水溶性成分 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2007, 29(5): 628-630.

[10] 陈有利. 当归芍药散中阿魏酸含量的测定及其药代动力学研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.

[11] 倪慧艳. 高效液相色谱法测定芪胶升白胶囊中阿魏酸的含量[J]. 中医学报, 2015(1): 95-97.

[12] 申安. 高效液相色谱法测定不同产地当归中阿魏酸的含量[J]. 中医学报, 2015, 30(3): 421-422.

[13] 徐魁,韩勇. 当归药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(15): 159-161.

[14] 魏刚,黄月纯,杨丽娥. 当归饮片及其煎剂 HPLC 指纹图谱的相关性研究[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(4): 24-27.

[15] 刘毅,刘素香,龚苏晓,等. 当归药材 HPLC 指纹图谱及其液相色谱-质谱联用分析[J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 259-262.

[16] 谭湘湘. 当归药材质量的综合分析研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2009.

[责任编辑 顾雪竹]