

# 调经种玉丸定性定量研究

钱芳\*, 刘志辉, 陆超

(南京中医药大学附属医院, 南京 210029)

**[摘要]** **目的:** 制定调经种玉丸的定性定量控制方法。**方法:** 用薄层色谱法对制剂中川芎、丹参、续断、熟地进行定性鉴别; 用高效液相色谱法对制剂中阿魏酸进行含量测定。**结果:** 各薄层定性鉴别色谱中, 所鉴别的药材薄层色谱特征明显, 在与对照药材或对照品相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。阿魏酸在 4.68 ~ 62.34 ng 呈良好的线性关系, 相关系数为 1.000 0 ( $n=5$ ), 平均加样回收率为 99.89%, RSD 0.79%。**结论:** 上述定性定量方法可用于调经种玉丸的质量控制。

**[关键词]** 调经种玉丸; 薄层色谱; 高效液相色谱; 阿魏酸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0139-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013170139

## Qualitative and Quantitative Analysis on Tiaojing Zhongyu Pills

QIAN Fang\*, LIU Zhi-hui, LU Chao

(Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To find a better analytic method to determine Tiaojing Zhongyu Pills qualitatively and quantitatively. **Method:** Rhizoma Chuanxiong, Radix Salviae Miltiorrhizae, Radix Dipsali, Radix Rehmanniae Praeparata were identified by TLC. A method of HPLC to determine content of ferulic acid in the preparation was developed. **Result:** The studies on the quality control showed that the characteristics for identification by TLC were distinct. The quantification method had the linear range of 4.68-62.34 ng ( $r=1.0000$ ).

**[收稿日期]** 20120719(011)

**[通讯作者]** \* 钱芳, 副主任中药师, 从事中药制剂的生产和研究, Tel: 13611577537, E-mail: qfss1024@126.com

- [3] 陈蓉. 醒脑静联合还原型谷胱甘肽治疗肝性脑病[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):273.
- [4] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准 WS3-B-3353-98-2003[S]. 2003.
- [5] 方颖, 赵希贤, 赵鸣舒, 等. 气相色谱法同时测定醒脑静注射液中麝香酮、龙脑、樟脑、异龙脑的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):96.
- [6] 高文分, 袁文娟, 王梅. GC 法同时测定醒脑静注射液中麝香酮、龙脑的含量及有关物质[J]. 中国药师, 2011, 14(11):1607.
- [7] 陈琴华, 李鹏, 张卓. GC-MS-SIM 法测定醒脑静注射液中麝香酮的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(5):422.
- [8] 王立强, 王思玲, 苏德森. 醒脑静注射液质量控制研究[J]. 中成药, 2004, 26(4):289.
- [9] 公衍玲, 王宏波, 金宏. 郁金挥发油提取工艺及其抑菌活性研究[J]. 医药导报, 2009, 28(2):170.
- [10] 宋步昌, 鞠建峰. 莪术油的药理作用及临床应用[J]. 山东中医杂志, 2003, 22(9):555.
- [11] Woong Cho, Joo-Won Nam, Hyun-Jun Kang, et al. Zedoaronidol isolated from the rhizoma of Curcuma heyneana is involved in the inhibition of iNOS, COX-2 and pro-inflammatory cytokines via the downregulation of NF- $\kappa$ B pathway in LPS-stimulated murine macrophages[J]. Int immunopharmacol, 2009, 9(9):1049.
- [12] 李敏, 张娜, 林琪宇. HPLC 测定郁金类药材中的吉马酮和莪术二酮[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(1):105.
- [13] 吴丽敏, 徐志, 顾青青, 等. 莪术二酮的研究进展[J]. 药物生物技术, 2011, 18(4):369.
- [14] 刘竹, 韩凤娟, 吴效科, 等. 莪术油的抗肿瘤及治疗卵巢癌的研究概况[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(17):2209.

[责任编辑 顾雪竹]

The average recovery was 99.89% (RSD 0.79%). **Conclusion:** The method can be used as a quality control standard of Tiaojing Zhongyu Pills.

[**Key words**] Tiaojing Zhongyu Pills; TLC; HPLC; ferulic acid

调经种玉丸由当归、川芎、白芍、熟地黄、杜仲等中药组成,为药材粉碎后制成的水蜜丸。具有养血理气、调经种子的功能,用于月经不调、不孕不育等症。本文对制剂中的川芎、丹参、续断、熟地进行薄层定性鉴别;用高效液相色谱法对制剂中君药当归、川芎中的主要有效成分阿魏酸进行含量测定,以控制该制剂的质量,保证疗效。

## 1 材料

Waters 2695 型高效液相色谱仪,2998 二极管阵列检测器,BP-211D 型(1/10 万)电子分析天平(德国 Sartorius),玻璃点样毛细管(华西医科大学仪器厂生产),939 型全自动薄层制板器(重庆市南岸贝尔德仪器技术厂),KQ-1000E 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),101-1A 型电热鼓风干燥箱(南通沪通制药机械设备厂),HH-4 型数显型恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司),Cary50 型紫外分光光度计(美国瓦里安技术有限公司),WD-9413A 型凝胶成像分析仪(北京市六一仪器厂)。

HG/T2354-92 型薄层色谱硅胶,青岛海洋化工有限公司,硅胶 G,青岛海洋化工集团,阿魏酸对照品(含量测定用,批号 110773-200611),5-羟甲基糠醛对照品(批号 111626-200804),川芎对照药材(批号 120918-200809),丹参对照药材(批号 120923-200610),续断对照药材(批号 121033-200608),购自中国药品生物制品检定所;调经种玉丸(批号 100222,100223,100224,5 g/包),江苏省中医院中药制剂实验室生产,薄层色谱所用试剂均为分析纯,高效液相色谱所用试剂为色谱纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 川芎** 取川芎对照药材 1 g,加乙醇 20 mL,氨水 2 mL,静置 30 min,超声处理 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。

称取调经种玉丸适量,粉碎成粗粉,取粗粉约 10 g,加 60% 乙醇 100 mL 水浴回流 1 h,滤过,滤液回收乙醇并加水定容至 40 mL,置分液漏斗中,加氨水 8 mL,混匀,用二氯甲烷振摇提取 3 次,每次

40 mL,分取二氯甲烷液,蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制备阴性供试品溶液。

照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,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。以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(60:5:0.2)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颜色的斑点,阴性供试品无干扰。

**2.1.2 丹参** 取丹参对照药材 0.5 g,加乙醚 10 mL,振摇,放置 1 h,滤过,滤液挥干乙醚,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。

称取调经种玉丸适量,粉碎成粗粉,取粗粉约 15 g,加乙醚 100 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液挥干乙醚,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制备阴性供试品溶液。

照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取丹参对照药材溶液 2  $\mu$ L,供试品溶液和阴性供试品溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上。以甲苯-乙酸乙酯(19:1)<sup>[1]</sup>为展开剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性供试品无干扰。

**2.1.3 续断** 取续断对照药材 0.4 g,加甲醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 40 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 40 mL,正丁醇液用氨水 15 mL 洗涤,再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 20 mL,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。

称取调经种玉丸适量,粉碎成粗粉,取粗粉约 10 g,加甲醇 100 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 50 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 40 mL,正丁醇液用氨水 15 mL 洗涤,再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 20 mL,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制备阴性供试品溶液。

照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取对照药材溶液 3  $\mu$ L,供试品溶液和阴性供试品溶液 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层

板上。以正丁醇-醋酸-水(4:1:5)<sup>[2]</sup>的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干。喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。阴性供试品无干扰。

**2.1.4 熟地黄** 取5-羟甲基糠醛对照品,加乙醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。

称取调经种玉丸适量,粉碎成粗粉,取粗粉约10 g,加甲醇100 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水50 mL使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取2次,每次40 mL,正丁醇液用氨水15 mL洗涤,再用正丁醇饱和的水洗涤2次,每次20 mL,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。同法制备阴性供试品溶液。

照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取上述3种溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(1:1)<sup>[3]</sup>为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2,4-二硝基苯肼试液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性供试品无干扰。

## 2.2 阿魏酸含量测定

**2.2.1 色谱条件**<sup>[1]</sup> Heder C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.085%磷酸溶液(B)梯度洗脱(表1),检测波长322 nm,柱温35℃,进样量20 μL,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

表1 流动相梯度洗脱

t/min	A/%	B/%
0	14	86
31	14	86
36	80	20
46	80	20
51	14	86
60	14	86

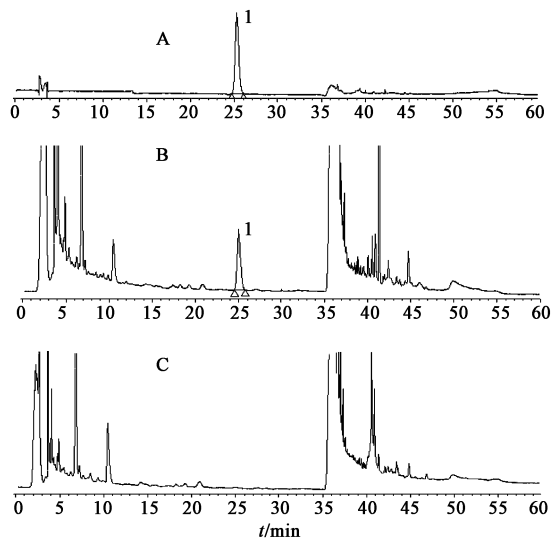
**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取阿魏酸对照品9.74 mg,加70%甲醇溶解制成每1 mL含阿魏酸0.389 6 mg的对照品溶液。吸取上述对照品溶液加70%甲醇溶解制成每1 mL含阿魏酸1.558 4 μg的对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 称取调经种玉丸适量,粉碎成粗粉,取粗粉约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇50 mL,密塞,称定质量,加热回流30 min,放冷,再称定质量,用70%甲醇补足缺失的质量,摇匀,静置,取上清液,滤过,取续滤液,

即得。

**2.2.4 阴性对照品溶液的制备** 按照调经种玉丸的制备工艺制备当归、川芎阴性样品,按上述供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

**2.2.5 系统适应性试验** 分别吸取阿魏酸对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各20 μL于高效液相色谱仪中进行试分离,样品与对照品在相同位置有较大吸收,阴性对照无干扰。色谱柱的理论板数按阿魏酸峰计算>5 000,分离度>1.5(图1)。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品; 1. 阿魏酸

图1 调经种玉丸 HPLC

**2.2.6 线性关系考察** 分别精密吸取质量浓度为1.558 4 mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液3, 5, 10, 20, 40 μL,注入高效液相色谱仪中测定。经线性回归,得阿魏酸回归方程 $Y = 4\,430\,023.61X + 1\,185.72$  ( $r = 1.000\,0$ ),阿魏酸进样量在4.68 ~ 62.34 ng与峰面积的积分值呈良好的线性关系。

**2.2.7 精密度试验** 取调经种玉丸粗粉(批号100222)约0.5 g,精密称定,依法制备供试品溶液,精密吸取20 μL,注入高效液相色谱仪,重复测定6次,以峰面积计算,RSD 0.65%,表明精密度良好。

**2.2.8 重复性试验** 取同一批号的调经种玉丸粗粉(批号100222)约0.5 g,精密称定,共6份,依法制备供试品溶液,测定,计算,RSD 1.52%,表明本方法重复性好。

**2.2.9 稳定性试验** 取同一供试品溶液,按上述色谱条件,于0, 2, 4, 6, 8, 12 h分别进样,测定色谱峰面积,RSD 0.54%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

**2.2.10 加样回收率试验** 称取同一批号样品(批号100222,阿魏酸含量121.96 μg·g<sup>-1</sup>)6份,分别加

入阿魏酸对照品溶液 2 mL(质量浓度 15.584 mg · L<sup>-1</sup>),依法制备供试品,按上述色谱条件测定,计算回收率。见表 2。

表 2 调经种玉丸中阿魏酸加样回收率测定

称样量 /g	样品含量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.260 4	31.759 2	62.894 3	99.89		
0.260 3	31.747 0	63.173 4	100.83		
0.261 4	31.881 2	63.178 4	100.41		
0.260 9	31.820 2	62.974 4	99.96	99.89	0.79
0.259 1	31.600 7	62.697 0	99.77		
0.262 1	31.966 6	62.664 5	98.49		

注:加入量均为 31.168 μg。

**2.2.11 样品含量测定** 取 3 个批号样品,每批 2 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,进样 20 μL,测定阿魏酸含量分别为 121.96,120.97,121.32 mg · g<sup>-1</sup>,结果平均含量为 121.42 μg · g<sup>-1</sup>。

### 3 讨论

川芎的薄层鉴别方法,以苯-乙酸乙酯-冰乙酸(6:4:1)<sup>[4]</sup>、石油醚(60~90℃)-三氯甲烷(9:1)<sup>[5]</sup>、三氯甲烷-丙酮-甲酸(8:1:1)<sup>[6]</sup>为展开剂,未见鉴别点。后以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(40:5:0.2)<sup>[7]</sup>为展开剂,将三氯甲烷改为二氯甲烷,展开剂的比例调整为(60:5:0.2),结果薄层展开较好,阴性无干扰。

熟地黄的薄层鉴别方法先按文中所述处理样品,参考药典<sup>[1]</sup>方法点样于硅胶 GF<sub>254</sub>薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(1:1)为展开剂,可见鉴别点,但重复性差。以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)<sup>[8]</sup>、三氯甲烷-甲醇-氨-水(16:4:2)<sup>[9]</sup>、环己烷-二氯甲烷-无水乙醇-醋酸乙酯-水(2:11:1:5:2)的下层

溶液<sup>[10]</sup>为展开剂,未见鉴别点。用文中所述展开方法,斑点清晰,得到了专属性较强的定性鉴别方法。

制剂中阿魏酸的含量测定方法参考药典<sup>[1]</sup>当归中阿魏酸的含量测定方法。经紫外扫描,阿魏酸的最大吸收波长为 322 nm,故确定此波长为检测波长。因本品处方中所含药味组分较多,成分较复杂,以乙腈-0.085%磷酸溶液(14:86)为流动相等度洗脱时在 150 min 时出现一较大的杂质峰,故采用梯度洗脱,以节省分析时间及溶剂,提高分析效率。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005;52,89,83.

[2] 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,2010;309

[3] 赵春香,章贵杰. 中成药中熟地黄的薄层色谱鉴别[J]. 中成药,1996,18(6):45.

[4] 解学星,胡雅萍,刘毅. 鼻渊舒软胶囊的质量标准研究[J]. 中草药,2010,41(10):1645.

[5] 韦文俊,罗远. 救尔心胶囊质量标准研究[J]. 中成药,2009,31(11):1801.

[6] 彭镰心,刘圆,瞿燕. 通舒口服液中丹参和川芎的薄层鉴别[J]. 西南农业大学学报,2005,27(5):590.

[7] 刘志辉,谢和兵,钱芳. 补阳还五合剂的薄层定性鉴别[J]. 中国药业,2008,17(4):29.

[8] 江滨,卢文彪,曾元儿. 巴戟补肾液质量标准的研究[J]. 中药新药与临床药理,2001,12(5):362.

[9] 丁伟姣,尹松鹤. 四物合剂的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药,2003,14(8):479.

[10] 赖宇红,吴垠,李依信,等. 妇科养坤丸质量标准提高研究[J]. 中成药,2008,30(8):1167.

[责任编辑 顾雪竹]