

生化丸质量标准研究

胡玉花^{1*}, 邓双炳¹, 王成霞¹, 李军红¹, 张思巨²

(1. 北京振东光明药物研究院有限公司国家中医药三级实验室, 北京 100120;
2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立一种生化丸的质量标准, 为科学评价和有效控制其质量提供可靠的依据。方法: 采用薄层色谱(TLC)对方中中药材进行鉴别; 采用高效液相色谱法(HPLC), 以甲醇-1%冰醋酸溶液(25:75)为流动相, 色谱柱 YMC-Pack ODS-A(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 322 nm, 测定生化丸中阿魏酸的含量。结果: TLC 图谱中可检出当归、川芎、甘草的特征图谱, 阿魏酸进样量在 52.0 ~ 520.0 ng 线性关系良好, $r = 0.9997$ 。平均回收率为 98.01%, RSD 1.34% ($n = 6$)。结论: 所建方法简单准确, 重复性好, 可用于生化丸的质量控制。

[关键词] 生化丸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 阿魏酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0125-03

Study on Quality Standard of Shenghua Pills

HU Yu-hua^{1*}, DENG Shuang-bing¹, WANG Cheng-xia¹, LI Jun-hong¹, ZHANG Si-ju²

(1. Level 3 Laboratory for State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing Zhendong Gguangming Pharmaceutical Research Institute Co. Ltd., Beijing 100120, China;
2. Institute of Chinese Meteria Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality standard of Shenghua pills for scientific evaluation and effective control of its quality to provide a reliable basis. **Method:** TLC was used for identification; ferulic acid was determined by HPLC, the separation was performed on YMC-Pack ODS-A (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), using a mixture of methanol-1% acetic acid solution (25:75) as the mobile phase with the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength is 322 nm. **Result:** *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels., *Ligusticum chuanxiong* Hort. and *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. could be detected by TLC. Ferulic acid was linear in the range of 52.0-520.0 ng ($r = 0.9997$); the average recovery was 98.01% (RSD 1.34%). **Conclusion:** The method was simple and accurate with a good reproducibility, and can be used for the quality control of Shenghua pills.

[Key words] Shenghua pills; TLC; HPLC; ferulic acid

[收稿日期] 20110831(004)

[基金项目] 山西振东开元制药股份有限公司质量标准提高项目

[通讯作者] *胡玉花, 从事药品质量研究, Tel: 010-62035456, E-mail: 408856063@qq.com

- [5] 盛智, 田春艳, 王羽雄, 等. 锦鸡丙素对两株人肺癌细胞株蛋白激酶和同工酶活性的影响[J]. 上海医科大学学报, 1999, 26(6): 395.
- [6] Woo E R, Km H J, Kwak J H, et al. Inhibition of gp-120-CD₄ interaction by various plant extracts [J]. Phytomedicine, 1997, 4(1): 53.
- [7] 孙慧玲, 张倩, 李东, 等. 固相微萃取/气相色谱/质谱法分析锦鸡儿茎挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 63.
- [8] 张丽, 高聆, 梁军, 等. 棕榈酸对胰岛的脂毒性及非诺贝特的保护作用[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2005, 21(2): 155.
- [9] 许新德, 张定丰, 汪志明, 等. 从植物甾醇中提取甾醇的方法[R]. 专利申请号 200310108704. 2, 2005.

[责任编辑 蔡仲德]

生化丸制剂来源于古方《傅青主女科》生化汤组方,由当归、川芎、桃仁、干姜(炒炭)、甘草等 5 味中药材组成。本品为黄棕色的大蜜丸,气微香,味微辛,具有养血祛瘀之功效,用于产后受寒恶露不行或行而不畅,夹有血块,小腹冷痛等症状^[1]。本品原标准为部颁标准,只有性状和丸剂的常规检查,缺少科学的定性、定量标准,不利于产品的质量控制。文献报道中只进行定性或者定量的单一研究,没有进行系统的研究。本文既采用薄层色谱法对生化丸中的当归、川芎和甘草进行了定性鉴别,又对组方中当归、川芎主要有效成分——阿魏酸采用反相高效液相色谱法测定了含量,为生化丸的质量控制提供了更全面的科学依据。

1 材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(美国 Alltech), Allchrom 色谱数据工作站, Model 426 泵, UVIS-201 紫外检测器。Sartorius CP225(1/10 万)电子天平, BS223S(1/千)电子天平。KQ5200DE 型数控超声仪器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药 阿魏酸对照品(批号 110773-200611), 当归、川芎、甘草对照药材均购自中国药品生物制品检定所,甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,高效硅胶 G 板(青岛海洋化工厂分厂),生化丸由山西振东开元制药有限公司生产(3 g/丸,批号 081013, 081014, 081015),阴性样品(自制),其余试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别^[3]

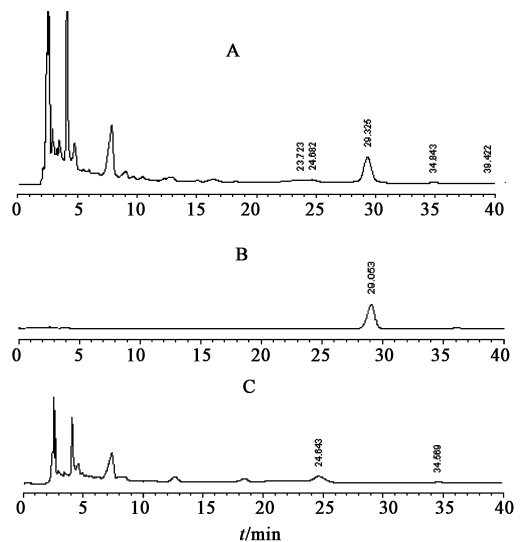
2.1 当归、川芎的鉴别 取本品 10 g,加硅藻土 5 g,研细,加乙醚 30 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制成缺当归、川芎的双阴性样品溶液。另取当归、川芎对照药材各 1 g,加乙醚 15 mL,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液 5 μ L、阴性样品溶液 5 μ L、对照品溶液各 1 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无此斑点。

2.2 甘草的鉴别 取 2.1 项下的滤渣加甲醇 30 mL 使溶解,置水浴上加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇溶液提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制成缺甘草

的阴性样品溶液。另取甘草对照药材 0.5 g,加乙醚 15 mL,超声处理 20 min,滤过,滤渣加甲醇 1 mL,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述三种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-丙酮-甲酸(8:1:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 三氯化铝溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,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,阴性对照无此斑点。

3 阿魏酸的含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 YMC-Pack ODS-A(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相甲醇-1% 冰醋酸溶液(25:75),流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长 322 nm,柱温室温。见图 1。



A. 供试品; B. 阿魏酸对照品; C. 阴性对照

图 1 生化丸中阿魏酸的 HPLC

3.2 对照品溶液 取经五氧化二磷减压干燥至恒重的阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成含阿魏酸 30 mg \cdot L⁻¹的溶液,即得。

3.3 供试品溶液 取生化丸约 3 g,精密称定,加硅藻土 1.5 g,研细,混匀,精密加入甲醇-甲酸(95:5)的混合溶液 50 mL,密塞,称定质量,加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用甲醇-甲酸(95:5)的混合溶液补足缺失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,回收溶剂至干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.4 阴性对照溶液 按生化丸的制备工艺制备当归、川芎的阴性样品,同法处理得到阴性对照溶液。

3.5 线性关系考察 精密吸取阿魏酸对照品溶液(浓度 $0.1040\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $0.5,1,2,3,4,5\text{ mL}$ 分别至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得不同浓度的对照品溶液。分别精密吸取上述溶液各 $10\text{ }\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,测定峰面积。以进样量 $X(\text{ng})$ 为横坐标,以峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,求出线性回归方程为 $Y=3561.5X-14296$ ($r=0.9997$),结果表明,阿魏酸进样量在 $52.0\sim 520.0\text{ ng}$ 与峰面积线性关系良好。

3.6 精密度试验 取对照品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$,在相同色谱条件下连续进样6次,测得阿魏酸的色谱峰面积的RSD($n=6$)为 0.62% ,表明仪器精密度良好。

3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,在相同色谱条件下,分别在配制后 $0,2,4,6,8,12,24\text{ h}$ 进样检测,测得阿魏酸色谱峰面积的RSD($n=7$)为 1.27% ,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.8 重复性试验 取同一批号(批号081014)样品6份,按上述供试品溶液制备方法制备,在上述相同色谱条件下进行测定,测得供试品中阿魏酸的平均含量为 $0.1144\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 1.27% ,结果表明方法重复性良好。

3.9 加样回收率试验 取已知含量的样品 1.5 g ,精密称定,加硅藻土 0.75 g ,研细,混匀,置约含有 0.16 mg 阿魏酸对照品的具塞锥形瓶中,按上述供试品溶液制备方法制备,平行制备6份,按上述色谱条件测定,计算回收率,结果见表1,该法准确度良好。

表1 阿魏酸加样回收率试验

称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1.5068	0.1724	0.1566	0.3287	99.79	98.01	1.34
1.5012	0.1717	0.1566	0.3239	97.19		
1.4812	0.1694	0.1566	0.3215	97.12		
1.5095	0.1727	0.1566	0.3287	99.61		
1.4956	0.1711	0.1566	0.3231	97.05		
1.4866	0.1701	0.1566	0.3224	97.28		

3.10 样品测定 取3批生化丸约 3 g ,精密称定,

按3.3制备供试品溶液,在3.1色谱条件下进行测定,结果供试品中阿魏酸的含量分别为 $0.1058, 0.1144, 0.1050\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

4.1 流动相选择 试用乙腈-1%磷酸溶液(13:87)、甲醇-1%冰醋酸溶液(27:73)^[4,5]作为流动相,结果发现分离效果不理想,而在甲醇-1%冰醋酸溶液(25:75)时,分离效果较好,基线平稳,峰型对称。

4.2 溶媒考察 在实验中考察了甲醇-甲酸(95:5)、三氯甲烷-甲酸(95:5)、0.5%氢氧化钠3种溶剂的提取效率,结果为甲醇-甲酸(95:5) > 三氯甲烷-甲酸(95:5) > 0.5%氢氧化钠,故选择甲醇-甲酸(95:5)为提取溶剂。

4.3 溶剂用量的选择 考察了 $30,50,100\text{ mL}$ 的溶剂用量,结果表明 50 mL 即可充分浸润样品粉末并提取完全。

4.4 提取方法的考察 分别考察了超声 30 min 、回流 1.5 h 、冷浸 10 h ,结果热回流提取率较高,故选择回流提取法。

4.5 提取时间的考察 分别考察了 $0.5,1,1.5,2\text{ h}$,结果表明 1 h 即可提取完全,为了节约时间,故选择回流提取 1 h 。

4.6 硅藻土用量的选择 考察了 $1/3,1/2,1/1$ 的硅藻土用量,RSD 0.45% ,表明硅藻土的用量无显著影响,但 $1/3$ 用量研磨时会黏蒸发皿,故选定 $1/2$ 用量。

[参考文献]

- [1] 许莉,潘凤军,刘景昱. 生化丸的临床应用[J]. 内蒙古中医药,2002,21(1):14.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:34.
- [3] 黄丽霞. 生化丸的质量标准研究[J]. 基层中药杂志,2002,16(3):13.
- [4] 杨美君,孙彦璞,杨文远. 生化丸质量标准的研究[J]. 中医药学报,2001,29(2):45.
- [5] 王鹰,殷放笛,王天山. RP-HPLC法测定生化丸中阿魏酸的含量[J]. 南京中医药大学学报,1999,15(2):94.

[责任编辑 蔡仲德]