

# 当归调经片的薄层鉴别和阿魏酸的测定

黄艳萍\*, 黄勇红

(广东食品药品职业学院, 广州 510520)

**[摘要]** 目的:建立当归调经片的质量标准。方法:采用 TLC 对制剂中的甘草、黄芪、白芍进行鉴别,采用 HPLC 定量测定阿魏酸的含量。结果:TLC 鉴别专属性强,斑点清晰可见,重现性好。阿魏酸在 0.010 5 ~ 0.084 mg 线性关系良好,  $r = 0.999 9$ ; 回收率 99.45%, RSD 1.16% ( $n = 5$ )。结论:建立的定性定量方法简便、可行,可用于当归调经片的质量控制。

**[关键词]** 当归调经片;阿魏酸;薄层鉴别法;高效液相色谱法

**[中图分类号]** R 284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0119-03

当归调经片是由当归、熟地黄、川芎、党参、白芍、甘草和黄芪组成的复方制剂。具有补血助气,调经的功效,用于贫血衰弱,病后,产后血虚以及月经不调,痛经<sup>[1]</sup>。是在原当归调经颗粒的基础上进行工艺改良而制备的新制剂,具有疗效好、服用剂量小的特点。采用薄层色谱法对制剂中的甘草、黄芪和白芍进行了鉴别研究,采用 HPLC 法建立阿魏酸的含量测定方法。

## 1 仪器和试剂

BT25s 电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司);SFG-01B 电热恒温干燥箱(湖北黄石医疗器械有限公司);岛津 HPLC(LC-10AT<sub>VP</sub> 泵,SPD-10A<sub>VP</sub> 检测器);AS5150BD-1 超声波清洗仪(天津奥特赛思仪器有限公司)。

硅胶 G(青岛海洋化工厂);甘草、白芍、黄芪对照药材,芍药苷对照品(批号 110736-200720)、黄芪甲苷对照品(批号 120974-200407)、阿魏酸对照品(批号 11773-200613)均由中国药品生物制品检定所提供;当归调经片及缺相应药材的阴性对照品(广州粤华药业有限公司提供);甲醇为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯。

## 2 定性鉴别

**2.1 甘草的薄层色谱鉴别**<sup>[2]</sup> 取本品 20 片,研细,称取粉末 2 g,加乙醚 40 mL,加热回流 1 h,滤过,残渣加甲醇 30 mL,再加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,

残渣加水 40 mL 使溶解,用正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 3 次,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶,作为供试品溶液。按供试品溶液的制备方法制备缺甘草的阴性溶液。取甘草对照药材 1 g,按供试品液的制备方法制成对照药材溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup> 试验,吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105  $^{\circ}$ C 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位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,结果见图 1。

**2.2 黄芪的薄层色谱鉴别**<sup>[2]</sup> 取本品 20 片,研细,称取粉末 2 g,加甲醇 50 mL,水浴回流 2 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加入甲醇 2 mL 溶解,与中性氧化铝 5 g 拌匀,装柱(内径 5 cm),用 40% 甲醇 100 mL 洗脱,将洗脱液蒸干,残渣加水 30 mL 溶解,用水饱和的正丁醇萃取 2 次,每次 20 mL,正丁醇液用正丁醇饱和的水 30 mL 洗涤 1 次,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品溶液。另取黄芪对照药材 1 g,加无水乙醇 30 mL,超声处理 20 min 后,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 10 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解,作为对照药材溶液。取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成浓度为 1  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液。按供试品溶液的制备方法制备缺黄芪的阴性溶液。照薄层色谱法试验,照薄层色谱法试验,分别吸取供试品液、对照药材液、阴性对照液各 10  $\mu$ L,对照品溶液 5  $\mu$ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(26:14:4,10  $^{\circ}$ C 以下放置 12 h)的下层液为展开剂,展开晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,

[收稿日期] 2009-10-15

[作者简介] \* 黄艳萍, Tel: (020) 37216552; E-mail: hypgz@126.com

105 ℃ 烘至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显一紫红色斑点,阴性对照无此斑点。结果见图 2。

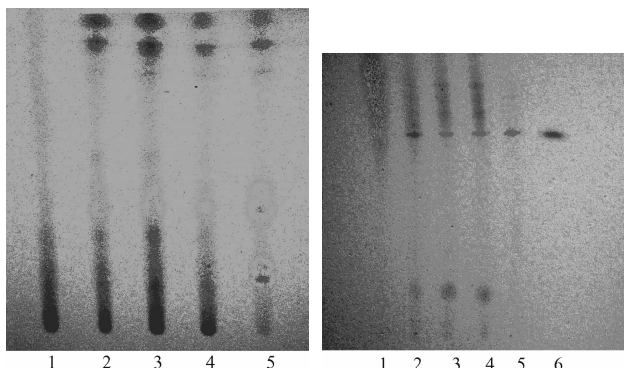


图 1 甘草薄层色谱图

1. 阴性对照;2~4. 供试品;  
5. 甘草对照药材

图 2 黄芪薄层色谱图

1. 阴性对照;2~4. 供试品;  
5. 对照药材;6. 黄芪甲苷对照品

**2.3 白芍的薄层鉴别** 取本品 20 片,研细,称取粉末 2 g,加甲醇 30 mL,超声处理 20 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 溶解,用正丁醇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 2 次,每次 10 mL,取正丁醇层水浴蒸至正丁醇约 1~2 mL 时加入 3 g 中性氧化铝拌匀,干燥,置中性氧化铝小柱(200 目,1 g,内径 10~15 mm)上,以甲醇-乙酸乙酯(1:1)30 mL 洗脱,洗脱液在水浴上蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解作为供试品溶液。取白芍对照药材 1 g,加甲醇 10 mL,超声处理 20 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加 1 mL 甲醇溶解,作为对照药材溶液。另取芍药苷对照品适量,加甲醇制成 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。按供试品溶液的制备方法制备缺白芍的阴性溶液,照薄层色谱试验,分别吸取上述溶液各 5 μL 点于同一硅胶 G 薄层板上,用三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(15:2:5:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,在 105 ℃ 加热至斑点清晰,供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相同位置上显相同颜色的斑点,阴性无干扰,结果见图 3。

### 3 HPLC 测定当归调经片中阿魏酸含量测定<sup>[3]</sup>

**3.1 色谱条件** 色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相 0.1% 乙酸-甲醇(70:30);流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温室温;检测波长 320 nm;进样量 10 μL。理论塔板数按阿魏酸计算,应不低于 1 000。在该色谱条件下,当归调经片中的阿魏酸与其他组分分离较好,结果见图 4。

**3.2 对照品溶液的制备** 精密称取阿魏酸对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.021 mg 的溶液。

**3.3 供试品溶液的制备** 精密称取当归调经片样品 1 g,置索氏提取器中,加甲醇适量,浸渍 24 h,回流提取 8 h,提取液置水浴蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中,然后用微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

**3.4 阴性对照品溶液的制备** 取处方量除当归、川芎外其余各药味阴性对照样品,照 3.3 项下方法制成缺当归、川芎阴性样品溶液。按 3.1 项下色谱条件测定,阴性样品的 HPLC 图谱中在与对照品阿魏酸 HPLC 图谱中相同的保留时间处无吸收峰,阴性无干扰,结果见图 4。

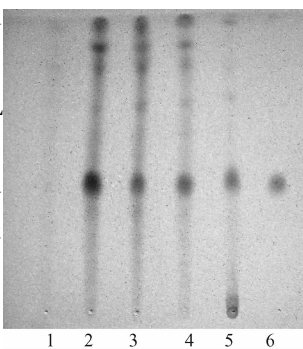


图 3 白芍薄层色谱图

1. 阴性对照液;2~4. 供试品;  
5. 对照药材;6. 芍药苷对照品

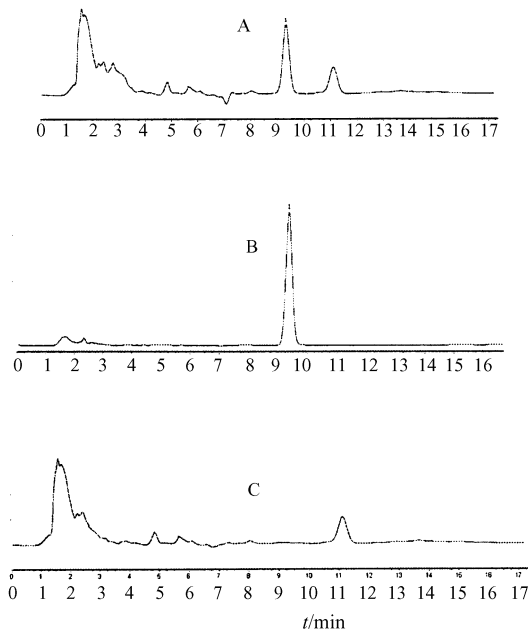


图 4 当归调经片(A)、阿魏酸对照品(B)、  
缺当归、川芎阴性对照(C)色谱图 1. 阿魏酸

**3.6 线性关系考察** 精密称取阿魏酸对照品 6.05 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,再精密吸取各 0.5,1.0,1.5,2.0,3.0,5.0 mL 溶液,分别至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μL 进样,按 3.1 项下色谱条件测定,记录峰面积。以进样浓度为横坐标,色谱峰面积的积分值为纵坐

标,绘制标准曲线。线性回归方程为:  $Y = 1.10 \times 10^5 X + 1.67 \times 10^3$  ( $r = 0.9996$ )。结果表明阿魏酸对照品在进样量  $0.0605 \sim 0.605 \mu\text{g}$  线形关系良好。

**3.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液  $10 \mu\text{L}$ ,在 24 h 内每隔一段时间进样 1 次,测定阿魏酸含量,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。RSD 1.05%。

**3.8 重复性试验** 取同一批号样品(批号 090701)平行 6 份,按 3.3 项下的方法制备成供试品溶液,再按 3.1 项下的色谱条件分别进样  $10 \mu\text{L}$  测定,计算 RSD 1.96%。

**3.9 精密度试验** 取同一供试品溶液,连续进样 5 次,分别记录峰面积积分值,RSD 0.97%。

**3.10 加样回收率试验** 取已知含量的样品 5 份,每份约 0.5 g,精密称定,按 3.3 项下的方法制备成供试品溶液 5 份,分别加入等量的阿魏酸对照品溶液,按 3.1 项下的色谱条件进样测定,计算回收率,结果平均回收率 99.45%,RSD 1.16%。结果见表 1。

表 1 阿魏酸加样回收率试验

称样量 /g	样品中 含量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.5300	0.1131	0.2181	100.00		
0.4831	0.1031	0.2061	98.10		
0.4995	0.1066	0.2126	100.95	99.45	1.16
0.4953	0.1057	0.2091	98.48		
0.4822	0.1029	0.2076	99.71		

注:份量均为 0.1050 mg。

**3.5.5 样品含量测定** 精密称取 4 个不同批号的样品 1 g,按 3.3 项下的方法制备成供试品溶液,分

别按 3.1 项下的色谱条件进样测定,得出质量分数  $0.2134 \sim 0.2321 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,平均值为  $0.2246 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

通过实验测出 4 批样品的含量。平均含量为  $0.2246 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,结合厂方工艺提取率以及药材质量的差异,限度暂拟定为每 1 g 含阿魏酸计算,不得少于 0.22 mg。

#### 4 讨论

本文对当归调经片进行了质量控制标准研究,建立了甘草、黄芪、白芍的薄层鉴别,建立了采用高效液相色谱法测定处方中当归、川芎的有效成分阿魏酸含量的方法。样品处理方法简单,薄层色谱图清晰,含量测定结果准确,重复性良好,可用于该制剂的质量控制。

含量测定用供试溶液的制备过程中,为了保证样品中阿魏酸充分提取,考虑过用甲醇超声 0.5 h 及 1 h,回流提取 0.5 h 及 1 h,阿魏酸转移率低杂质较多,基线和杂质峰有干扰。而用索氏提取器提取,加甲醇适量,浸渍 24 h,回流提取 8 h 可以有效的分离出阿魏酸的峰,而且样品溶液中阿魏酸的损失少。

#### [参考文献]

[1] 卫生部药品标准. 中药成方制剂[S]. 第 10 册,1995: 55.  
 [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:59,附录 1,68,212.  
 [3] 张健,金樑,杨传敏,等. 高效液相色谱测定小儿运脾剂中阿魏酸的含量[J]. 中国药房,2005,16(24):1895.

[责任编辑 全燕]

(上接第 118 页)

(MAE: 21.96%, SD: 12.87%)、斑蝥素(MAE: 0.17%, SD:-)、亚油酸(MAE: 2.46%, SD: 0.60%)、1-碘十六烷(MAE: 7.22%, SD:4.48);二十六烷(MAE: 12.49%, SD:8.67%)。MAE 法提取时间短,与 SD 法提取的化学成分有较大差别,能提取出 SD 提取方法无法提取出来的高沸点的化学成分。2 种方法结合可以使挥发性成分的种类和量提取完全。

#### [参考文献]

[1] 易剑峰. HPLC 法测定金花葵花中金丝桃苷的含量[J]. 宜春学院学报:自然科学版,2007,29(4):72.  
 [2] 吴名全. 珍稀植物——金花葵[J]. 现代园艺,2008,13(10):99.  
 [3] 仇燕. 菜芙蓉花中总黄酮微波提取的研究[J]. 中药材,2006,29(4):387.  
 [4] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京:科学出版社,1987:251.  
 [5] 王萍,张银波,江木兰. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 中国油脂,2008,33(12):42.

[责任编辑 全燕]