

妇科养荣丸六种成分测定

李磊¹ 张强¹ 景廷杰¹ 陈玉海^{1,2}

1. 仲景宛西制药股份有限公司; 2. 河南省中药固体制剂技术创新中心

摘要: 本研究旨在建立一种同时测定妇科养荣丸(主要成分为当归、川芎、杜仲、陈皮等)中绿原酸、京尼平苷酸、芍药苷、阿魏酸、橙皮苷、松脂醇二葡萄糖苷含量的方法。采用的方法是通过甲醇提取液的分析,使用 Eclipse XDB-C18 色谱柱(450 mm×4.6 mm, 5 μm)进行分离;流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液,采用梯度洗脱;流速设定为 1.0 mL/min;柱温保持在 30℃;进样量为 5 μl;检测波长为 230 nm。结果显示,这 6 种成分在各自检测范围内均表现出良好的线性关系(相关系数 $r \geq 0.9995$),平均加标回收率为 98.71%,相对标准偏差(RSD)小于 1.3%。因此,本研究所提出的分析方法准确可行,适用于妇科养荣丸(浓缩丸)的质量控制。

关键词: 妇科养荣丸; HPLC; 一测多评

妇科养荣丸(浓缩丸)由当归、酒白芍、熟地黄等十六味药材制成,具有补养气血,疏肝解郁,祛瘀调经等功效。它主要用于治疗气血不足、血漏血崩,贫血身弱及不孕症^[1]。在临床上,妇科养荣制剂也常用于更年期功能性子宫出血、原发性卵巢功能不全、不孕症等疾病的联合治疗^[2-4]。原质量标准收录于《中药成方制剂》第十五册,该标准仅规定了显微鉴别;现收载于《中国药典》2020 版一部,增加了当归、川芎等薄层色谱鉴别,并对芍药苷含量进行了测定,规定每 1 g 含白芍以芍药苷计,不得少于 0.80 mg。在质量标准中,检验项目单一化,难以全面把控制剂的整体质量。目前,关于芍药苷、橙皮苷等指标性成分评价妇科养荣丸(浓缩丸)质量的研究已有相关报道^[5-8],但这些报道

尚不够全面。通过资料检索发现,当归、川芎、白芍、杜仲等药材均具有相应的含量指标性成分。近年来,一测多评作为快速发展的中药质量控制方法,因具备科学、准确、应用范围广、可操作性强等优点,在传统中药复方制剂中得到了广泛应用^[9-18]。因此,本文采用高效液相色谱(HPLC)法对妇科养荣丸(浓缩丸)的质量进行研究,旨在为妇科养荣丸的整体质量控制提供科学参考。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,配备 DAD 检测器(Agilent 公司); AU220 型电子天平(精度达万分之一,日本岛津电子天平); CPA225D 型电子天平(精度达十万分之一,德国赛多利斯);以及 KQ-500VDE 三频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

对照品包括:京尼平苷酸(批号 111828-201805,纯度 98.1%)、绿原酸(批号 110753-202119,纯度 96.3%)、芍药苷(批号 110736-202145,纯度

94.6%)、松脂醇二葡萄糖苷(批号 111537-201706,纯度 91.7%)、阿魏酸(批号 110773-201915,纯度 99.4%)以及橙皮苷(批号 110721-202019,纯度 95.3%)。来源:中国食品药品检定研究院;妇科养荣丸[仲景宛西制药股份有限公司,批号分别为 20031、20032、20033、20034、20035、20036,规格为每瓶 200 丸(每 8 丸相当于原生药 3 g)];实验中使用的溶剂为色谱级甲醇和超纯水,其他试剂均为分析级。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Eclipse XDB-C18 柱(450 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇(A)与 0.1% 磷酸溶液(B)进行梯度洗脱;0-5 min, 5%A;5-10 min, 5%-15%A;10-17 min, 15%-22%A;17-18 min, 22%-25%A;18-25 min, 25%A;25-28 min, 25%-27.8%A;28-40 min, 27.8%-32%A;40-55 min, 32%-55%A;55-60 min, 55%-90%A;60-70 min, 90%A;波长为 230 nm;柱温:30℃;流速为 1.0 mL/min;进样量: 5 μl。

作者简介: 李磊为本文第一作者,从事中药生产质量控制与研发,担任仲景宛西制药股份有限公司提取车间主任。

基金项目: 河南省重大科技专项 [221100310400]

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液配制

取适量对照品，进行精密称定后，加甲醇溶解并摇匀，制得京尼平苷酸、绿原酸、芍药苷、松脂醇二葡萄糖苷、阿魏酸、橙皮苷的对照品贮备液，其质量浓度分别为 0.05480 mg/ml、0.16132 mg/ml、0.25840 mg/ml、0.07484 mg/ml、0.21876 mg/ml、0.56440 mg/ml。再取该贮备液 50 ml 置于 200 ml 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液制备

取本品细粉 1 g，置于 25 ml 量瓶中，加入适量甲醇，超声处理 30 min 后放冷，再用甲醇定容至刻度，充分振摇，滤过，取续滤液，经 0.45 μm 滤头过滤，即得。

2.2.3 阴性样品溶液制备

取缺当归（含绿原酸、阿魏酸）、酒白芍（芍药苷）、川芎（阿魏酸）、杜仲（松脂醇二葡萄糖苷、京尼平苷酸）、陈皮（橙皮苷）的剩余药材，按照处方及工艺制备阴性样品，再按照“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.3 一测多评法测定各成分含量

2.3.1 专属性实验

精密吸取上述阴性样品溶液、对照品溶液及供试品溶液，按“2.1”项下的色谱条件进样，记录色谱图，见图 1。结果显示，各成分有效分离且阴性对照无干扰，表明该方法专属性良好。

2.3.2 线性关系考察

将对照品稀释成 6 个不同浓度，分别取 5 μl，按“2.1”项下色谱条件进

样测定。以 C 质量浓度为横坐标(X, mg/ml)、S 峰面积为纵坐标 (Y)，进行回归分析，结果见表 1。各成分在各自范围内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验

取对照品溶液 1 ml，按照“2.1”项下色谱条件重复进样 6 次。计算六种成分的峰面积 RSD 分别为 0.29%、0.82%、0.50%、0.86%、1.08%、0.18%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验

取批号为 20031 的样品，按“2.2.2”项下方法制备 6 份，以“2.1”项色谱条件进样测定，计算各成分含量 RSD 分别为 0.62%、1.51%、0.82%、1.32%、1.40%、0.58%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验

取同一样品溶液，在 0、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h 时分别进样，测定绿原酸、京尼平苷酸、芍药苷、阿魏酸、橙皮苷、松脂醇二葡萄糖苷的峰面积，计算 RSD 分别为 1.14%、0.90%、1.27%、0.79%、1.10%、0.84%，表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验

取批号为 20031 的样品，研细后

取 6 份，每份约 0.5 g，置 25 ml 容量瓶中，加入对照品溶液 10 ml，加甲醇适量，超声处理 30 min，冷却后加甲醇至刻度，摇匀，滤过，按“2.1”项色谱条件进样测定，计算回收率分别为 97.77%、98.73%、99.26%、99.35%、98.27%、98.85%，RSD 分别为 1.21%、1.24%、0.88%、0.97%、1.04%、1.17%。

2.3.7 样品含量测定

取 6 批样品，按“2.2.2”项下方法制备，按“2.1”项下色谱条件进样测定，结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测波长选择

由于中药方剂成分复杂，各成分的最大吸收波长不同，本实验在 190 nm ~ 400 nm 范围内进行全波长扫描。结果显示，芍药苷、阿魏酸、绿原酸、橙皮苷、松脂醇二葡萄糖苷和京尼平苷酸分别在 230 nm、310 nm、327 nm、283 nm、277 nm 和 254 nm 处有最大吸收。但通过对比几种成分的全波长扫描结果，发现它们在 230 nm 处的峰面积减少较小。因此，选择在 230 nm 处记录色谱图，并进行 6 种成分的测定。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围 (μg/ml)
京尼平苷酸	$Y=16282X-3.104$	0.9997	2.74 ~ 54.8
绿原酸	$Y=2051X+0.6393$	0.9999	8.01 ~ 161.32
芍药苷	$Y=16282X+2.7377$	0.9996	12.92 ~ 258.40
松脂醇二葡萄糖苷	$Y=8070.7X-2.8288$	0.9998	3.74 ~ 74.84
阿魏酸	$Y=2265.4X+1.0534$	0.9998	10.94 ~ 218.76
橙皮苷	$Y=10633X+33.425$	0.9997	28.22 ~ 564.4

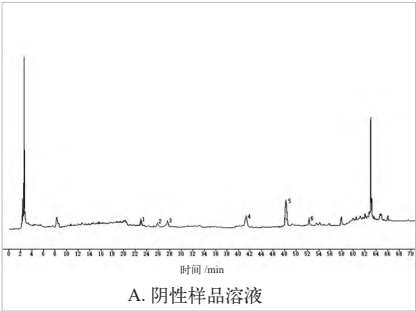
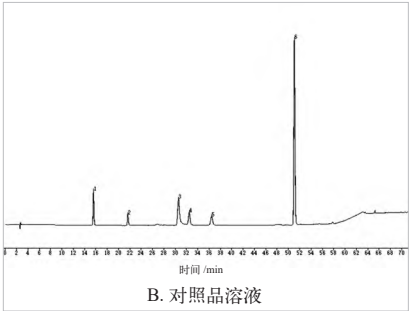
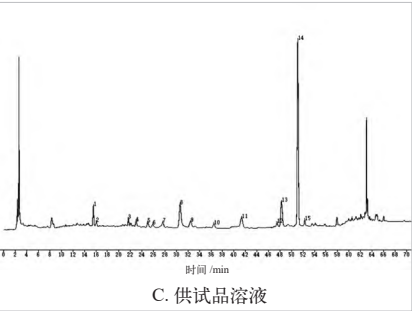


图 1 高效液相色谱图

表 2 各成分含量测定结果 (mg/g)

批号	京尼平 苷酸	绿原酸	芍药苷	松脂醇二 葡萄糖苷	阿魏酸	橙皮苷
20031	0.27	0.76	1.88	0.32	0.79	4.50
20032	0.26	0.72	1.79	0.30	0.74	4.32
20033	0.26	0.75	1.87	0.32	0.80	4.50
20034	0.24	0.77	1.91	0.29	0.82	4.10
20035	0.26	0.71	1.83	0.33	0.75	4.27
20036	0.23	0.75	1.85	0.30	0.77	4.56

3.2 流动相选择

本实验对比了乙腈 -0.1% 磷酸、甲醇 -0.1% 冰醋酸、甲醇 -0.1% 磷酸和甲醇 -水作为流动相，不同成分的分离效果及峰形。结果显示，甲醇 -0.1% 磷酸作为流动相时分离效果及峰形最佳。由于样品成分复杂且各有效成分保留时间长短不一，经反复实验确定采用梯度洗脱方式进样,以实现各成分的有效分离。

3.3 提取方法

参考《中国药典》中样品的处理方法，本实验分别采用了加热回流和超声波处理两种方法进行研究。研究发现，不同超声提取时间（30 min、45 min、60 min）提取率差异不明显，30 min 时各成分已能有效提取；加热回流（30 min、60 min）的提取效果与超声提取的差异不大。为简化操作，选择超声波提取作为样品处理方法。此外，通过改变不同提取溶剂发现，甲醇作溶剂时橙皮苷提取率最高，而使用含水的有机溶剂作为提取溶剂时，橙皮苷的损失较为明显。而其他几种成分受提取溶剂变化影响较小。

4 结论

本文对妇科养荣丸（浓缩丸）中的 4 种药材 6 个指标成分进行了定量分析，为该药品的整体质量控制提供了科学依据，使整体质量控制更加全面和合理，具有重要的参考价值。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国

药典.一部 [M]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[2] 赵嘉琳, 王莉梅. 妇科养荣胶囊联合炔诺酮治疗更年期功能性子宫出血的 Meta 分析 [J]. 中国实用医药, 2021, 16 (25) : 120-122.

[3] 黄书慧, 张晓金. 中西药联合治疗原发性卵巢功能不全的临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32 (04): 1707-1711.

[4] 郝爱利. 妇科养荣丸联合西药治疗不孕症的临床研究 [J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6 (19) : 38.

[5] 姜春苗. HPLC 法测定妇科养荣丸（浓缩丸）中橙皮苷的含量 [J]. 求医问药（下半月）, 2013, 11 (01) : 416-417.

[6] 姚晋英, 罗晋萍, 袁鹏飞. HPLC 法测定妇科养荣丸中芍药苷的含量 [J]. 中国药师, 2007(02): 117-118.

[7] 张峰, 李习莹, 赵玉泉. UPLC-MS/MS 法同时测定妇科养荣丸（浓缩丸）中 10 种有效成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39 (10): 1236-1244+1250.

[8] 邹俊, 黄海欣, 张玉洁. 妇科养荣丸（浓缩丸）质量标准研究 [J]. 中成药, 2002(08): 28-30.

[9] 马双成, 王莹. 我国中药质量控制模式及思路研究进展十年回顾 [J/OL]. 中国药学杂志: 1-21[2023-02-06].

[10] 朱晶晶, 王智民, 高慧敏等. 一测多评法在中药质量评价中的应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (16) : 220-228.

[11] Yan H and Zou C. [Progress and prospect of application of traditional Chinese medicine fingerprint(specific chromatogram) in Chinese Pharmacopoeia (2010-2020)].[J] 南方医科大学学报 Volume 42, Issue 1.2022.PP150-155.

[12] 孙立夫. 赤芍、白芍的化学成分及药理学研究的比较分析 [J]. 园艺与种苗, 2024, 44 (03) : 11-13+83. DOI: 10.16530/j.cnki.cn21-1574/s.2024.03.005.

[13] 李靖云, 方磊, 丁野, 等. 酒杜仲质量标准的研究 [J]. 中国民族民间医药, 2024, 33 (02) : 28-32.

[14] 裴佳韦, 王娅红, 章建华, 等. HPLC 同时测定杜仲 - 川芎药对中的 7 种成分 [J]. 华西药学杂志, 2023, 38 (06) : 695-699.DOI:10.13375/j.cnki.wcjps.2023.06.019.

[15] 黎桃敏, 彭帮贵, 张兰兰, 等. 陈皮配方颗粒提取工艺的优化 [J]. 中国医药工业杂志, 2023, 54 (08) : 1241-1246.DOI:10.16522/j.cnki.cjph.2023.08.014.

[16] 牟春燕, 殷越, 沈子芯. 当归化学成分及药理作用研究进展 [J]. 山东中医杂志, 2024, 43 (05) : 544-551.DOI:10.16295/j.cnki.0257-358x.2024.05.020.

[17] 汤依娜, 周涛, 郭俊霞, 等. 川芎及酒川芎饮片综合质量评价标准的建立及商品规格等级的评价 [J]. 华西药学杂志, 2021, 36 (04) : 401-409.DOI:10.13375/j.cnki.wcjps.2021.04.008.

[18] 王奕菲. HPLC 测定陈皮制剂中橙皮苷的含量 [J]. 现代诊断与治疗, 2023, 34 (14) : 2176-2179+2182.