

HPLC法测定生化软胶囊中阿魏酸含量

马民伟¹, 周慧娟^{2*}

(1. 宁夏银川市中医医院, 宁夏 银川 750001; 2. 宁夏卫生学校, 宁夏 银川 750021)

生化软胶囊由当归、川芎、桃仁、炮姜、甘草 5 味药物组成, 具有养血祛瘀的功效, 用于产后恶露不尽或行血不畅, 夹有血块, 小腹冷痛。当归、川芎分别是处方中的君药和臣药, 均含有活性成分阿魏酸。为了对生化软胶囊进行质量控制, 本研究采用 HPLC 法对其制剂中阿魏酸的含量进行了测定。

1 仪器与试药

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10A 检测器 (日本岛津公司), METTLER AE240 十万分之一天平 (瑞士), 岛津 UV-220 紫外分光光度计。

阿魏酸对照品 (0773-9809) 由中国药品生物制品检定所提供; 生化软胶囊 (批号: 001012 001015 001020) 由宁夏多维药业有限公司提供, 不含当归、川芎的生化软胶囊阴性对照由宁夏多维药业有限公司提供。所用试剂均为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 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 0.15 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备: 取软胶囊内容物约 1 g, 加 60 mL 甲醇, 回流提取 30 min, 过滤, 残渣用甲醇 20 mL 分次洗涤, 合并提取液及洗涤液, 定容至 100 mL, 以微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

2.3 阴性对照溶液的制备: 取不含当归、川芎的样品, 按 2.2 项下方法制成生化软胶囊阴性对照溶液。

2.4 色谱条件: 色谱柱: Hypersil C₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 室温; 流动相: 甲醇-8% 醋酸水溶液 (25:75); 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 320 nm。理论塔板数按阿魏酸计不低于 2500。

2.5 干扰试验: 在上述色谱条件下, 取阿魏酸对照品溶液、供试品溶液、缺当归、川芎的阴性对照溶液各 10 μL, 进行 HPLC 测定, 结果见图 1。可见阿魏酸与其他组分达到较好分离效果, 并且阴性对照不干扰阿魏酸的测定。

2.6 线性关系考察: 精密称取阿魏酸对照品约 1 mg, 加甲醇溶解并定容至 100 mL, 得 0.01 mg/mL

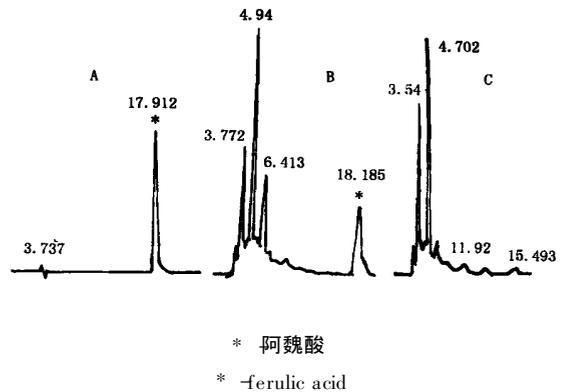


图 1 阿魏酸 (A)、供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of ferulic acid (A), sample (B) and blank (C)

的阿魏酸对照品溶液。分别精密量取阿魏酸对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 20 μL 依次进样, 测定峰面积, 以进样量对峰面积进行线性回归, 回归方程为 $Y = 4070.152X - 3612$, $r = 0.9998$ 。结果表明: 进样量在 0.02~0.20 μg 呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验: 精密吸取同一浓度的阿魏酸对照品溶液 5 μL, 重复进样 5 次, 得阿魏酸峰面积的 $RSD = 1.09\%$ 。

2.8 稳定性试验: 精密称取阿魏酸对照品 1.0126 g, 置 100 mL 棕色容量瓶内, 以甲醇溶解并稀释至刻度, 分别吸取此溶液于 10 mL 容量瓶内, 得阿魏酸对照品溶液 3 份, 第 1 份蔽光室温保存, 第 2 份室温不蔽光自然放置, 第 3 份蔽光于 50℃ 水浴加热。3 份样品分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 取样 10 μL, 测定, 结果见表 1。

表 1 稳定性试验结果

Table 1 Results of stability test

条件	阿魏酸不同时间的含量变化 %				
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
室温蔽光	100	103.31	97.98	98.31	97.59
自然放置	100	39.81	38.35	31.63	27.72
50℃ 加热	100	56.94	39.14	30.53	24.18

结果表明, 阿魏酸以光线和受热不稳定, 因此样

* 收稿日期: 2002-05-30

作者简介: 马民伟 (1967-), 男, 河南人, 主管中药师, 1990 年毕业于上海中医药大学, 医学学士, 主要从事制剂研究。

品应蔽光 冷藏

2.9 重现性试验:取同一批号样品 5份,分别制备供试品溶液,各吸取 10 μ L 进行测定,阿魏酸含量的 $RSD=0.43\%$ 。

2.10 加样回收率试验:精密称取已知阿魏酸含量的样品 5份,分别加入一定量的阿魏酸对照品,依法测定,结果平均回收率为 98.3%, $RSD=0.90\%$ 。

2.11 样品的测定:按上述测定法,对 10批样品进行了阿魏酸的含量测定,结果见表 2

表 2 生化软胶囊中阿魏酸含量测定结果 ($n=3$)

Table 2 Content of ferulic acid in 10 batch of Shenghua Soft Capsule ($n=3$)

批号	阿魏酸含量 / (mg \cdot 粒 $^{-1}$)
001016	0.202 1
001108	0.200 3
001109	0.180 0
001113	0.184 1
001219	0.179 6
001220	0.187 7
001225	0.156 6
001226	0.181 0
001227	0.205 2
001228	0.181 0

3 讨论

3.1 流动相的选择:曾参考有关文献^[1-3]采用甲醇-水(4%醋酸)及乙腈-水乙酸(25:75:1)作为流动相,实验证明,以本实验所采用流动相分离效果最好。

3.2 提取方法的选择:曾参考文献^[1,4]采用超声提取法、萃取法等方法,经加样回收率试验证明,以本实验中所用提取方法最好。

3.3 经稳定性试验证明,虽然样品溶液在室温光照和加热的情况下不稳定,但是样品溶液配制好后,避光、冷藏,8 h内进行测定基本不受影响,因此,本方法可以作为控制生化软胶囊的质量标准。

References

[1] Zhang L K, Chen X W, Zou A Q. Determination of ferulic acid and ligustazine in compound formula preparations by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(4): 213-214.

[2] Wang H J, Shen X, Yang J, et al. Determination of ferulic acid in Danggui Buxue Decoction by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 1998, 4(5): 9-10.

[3] Yang N L, Yang W Y, Yang Z H. Determination of ferulic acid in Shenghuatang Oral Liquid by HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1999, 19(2): 88-89.

[4] Yu J, Jiang Y Y, Zhang X. Determination of ferulic acid in Danggui Injection by HPLC [J]. *J Anhui Coll Tradit Chin Med* (安徽中医学院学报), 1999, 18(5): 67-68.

HPLC法测定西洋参茎叶总皂苷降解物中 20(S)-人参皂苷 R_g 的含量

孟 勤¹,尹建元¹,赵俊艳²,梁 迪^{1*}

(1. 吉林大学药学院,吉林 长春 130021; 2. 吉林大学制药厂,吉林 长春 130021)

西洋参 *Panax quinquefolium* L. 为五加科人参属植物,根部入药。1998年尹建元等从野山参茎叶皂苷中首次分离得到人参皂苷 R_{g3}^[1]。2002年孟勤等从西洋参叶中首次分离得到人参皂苷 R_{g3}^[2]。人参皂苷 R_{g3} 具有明显抑制乙酰胆碱刺激肾上腺素嗜铬细胞分泌儿茶酚胺的作用^[3],并且人参皂苷 R_{g3} 毒性小,生物活性强,是很具有开发价值的天然活性成分,但人参皂苷 R_{g3} 在自然界存在甚少。为了获得大量人参皂苷 R_{g3},我们采用西洋参茎叶提纯总皂苷并制备二醇组皂苷^[4],再将二醇组皂苷进行降解制备人参皂苷 R_{g3}。本实验采用 HPLC法测定了西洋参降解物中 20(S)-人参皂苷 R_{g3} 的含量。

1 仪器与试剂

美国 Waters 600E双泵头柱塞往复泵, Waters

2478双波长紫外检测器,chromstation数据处理系统;20(S)-人参皂苷 R_{g3} 对照品由本室自制,经高效液相色谱归一化法测定其含量为 98%以上。甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总皂苷降解物的制备:二醇组皂苷在 150 $^{\circ}$ C, pH值为 12的条件下,水解 3 h后,得西洋参茎叶皂苷降解物。按以上条件制备 3批西洋参茎叶皂苷降解物,批号分别为 010429, 010608, 010715

2.2 色谱条件:色谱柱为惠普产 Zorbax ODS柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-水(84:16);流速:1.0 mL/min;柱温:40 $^{\circ}$ C;检测波长:203 nm。在此条件下 20(S)-人参皂苷 R_{g3} 与其它峰分开(图 1)。

* 收稿日期: 2002-04-24