

- TPPS₄ in scavenging oxygen free radicals and hydrogen peroxide [J]. *Acta Univ Med Tongji* (同济医科大学学报), 1997, 26(5): 344-347.
- [5] Liang F Z, Du M, Ren J C, *et al*. Synthesis and catalytic activity of mimetic enzyme of salicylaldehyde-2-amino-phenylthiazole and its complexes [J]. *Chin J Inorg Chem* (无机化学学报), 1999, 5(3): 393-396.
- [6] Ma X Y, Wu Y H, Ding L, *et al*. SeGPX activity of organoselenium-containing cyclodextrins and their scavenging effects on ·OH [J]. *Chin J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1999, 20(8): 1163-1167.

RP-HPLC 法测定酸枣仁汤中棘苜和阿魏酸的含量

李玉娟, 毕开顺*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立测定酸枣仁汤中棘苜和阿魏酸含量的 RP-HPLC 分析方法。方法 色谱柱: Hypersil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 棘苜流动相为乙腈-1% 冰醋酸水溶液 (17 : 83), 检测波长 334 nm; 阿魏酸流动相为乙腈-1% 冰醋酸水溶液 (16 : 84), 检测波长 320 nm, 内标物为对羟基苯甲醛。结果 棘苜和阿魏酸分别在 0.960~13.44 μg/mL ($r=0.9998$) 和 2.04~27.2 μg/mL ($r=0.9997$) 与峰面积线性关系良好。平均回收率分别为 98.4% 和 98.8%, RSD 分别为 2.5% 和 2.8%。结论 本法操作简便、快速、准确, 可用于酸枣仁汤中棘苜和阿魏酸的含量测定。
关键词: 酸枣仁汤; 棘苜; 阿魏酸; 高效液相色谱

中图分类号: R286.06

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)07-0754-03

Determination of spinosin and ferulic acid in Suanzaoren Decoction by RP-HPLC

LI Yu-juan, BI Kai-shun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Object** To develop an RP-HPLC method for determination of spinosin and ferulic acid in Suanzaoren Decoction (SZRD). **Methods** Hypersil C₁₈ column was used. The mobile phase consisted of acetonitrile-water with 1% glacial acetic acid (17 : 83) for spinosin and (16 : 84) for ferulic acid. Detection wavelengths were set at 334 and 320 nm, respectively. The internal standard was *p*-hydroxybenzaldehyde for ferulic acid. **Results** The linear ranges for spinosin and ferulic acid were 0.960—13.44 μg/mL ($r=0.9998$) and 2.04—27.2 μg/mL ($r=0.9997$), respectively. The recoveries for them were 98.4% and 98.8%, respectively. The RSD were 2.5% and 2.8%, respectively. **Conclusion** This method is simple, rapid and accurate, and can be used for the determination of spinosin and ferulic acid in SZRD.

Key words: Suanzaoren Decoction (SZRD); spinosin; ferulic acid; HPLC

酸枣仁汤出自《金匱要略》, 由炒酸枣仁 18 g、茯苓 10 g、川芎 5 g、知母 10 g、甘草 3 g 组成。方中酸枣仁养肝血、安心神, 为君药; 川芎调血养肝、茯苓宁心安神, 为臣药; 知母滋阴降火、清热除烦, 为佐药; 甘草和中缓肝, 为使药。本方临床主治肝血不足, 虚火内扰心神所致的心烦失眠等症^[1]。已有研究表明酸枣仁的君药酸枣仁中棘苜和臣药川芎中阿魏酸为该复方重要镇静、催眠的有效成分^[2]。本实验采用 RP-HPLC 法对酸枣仁汤中棘苜和阿魏酸含量进行测定, 以期客观、全面评价酸枣仁汤质量和完善该复方中药的质量标准提供实验依据。

1 仪器与药品

LC—10A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SPD—10A 紫外检测器 (日本岛津公司); Ckchrom—chromatography 数据采集系统; ZFQ—85A 型旋转蒸发仪 (上海医械专机厂)。

乙腈、甲醇 (色谱纯), 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯; 棘苜对照品由本教研室提供 (纯度 > 98%); 阿魏酸对照品购自中国药品生物制品检定所。炒枣仁、茯苓、川芎、知母与甘草购自沈阳天益堂药店, 经沈阳药科大学生药鉴定研究室 [许春泉] 高级工程师鉴定, 粉碎, 过 60 目筛, 备用。

* 收稿日期: 2003-10-15

作者简介: 李玉娟 (1975—), 女, 山东泰安市人, 药理学博士, 主要从事复方中药药效物质基础和质量控制方法研究。

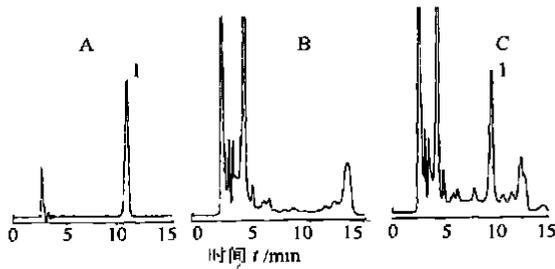
2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 棘苔色谱条件: 色谱柱: Hypersil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm, 大连依利特公司); 流动相: 乙腈-1% 冰醋酸水溶液 (17 : 83), 检测波长: 334 nm; 体积流量: 0.8 mL/min; 柱温: 室温; 进样体积: 20 μL。

2.1.2 阿魏酸色谱条件: 色谱柱: Hypersil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm, 大连依利特公司); 流动相: 乙腈-1% 冰醋酸水溶液 (16 : 84); 检测波长: 320 nm; 体积流量: 0.8 mL/min; 内标物: 对羟基苯甲醛; 柱温: 室温; 进样体积: 20 μL。

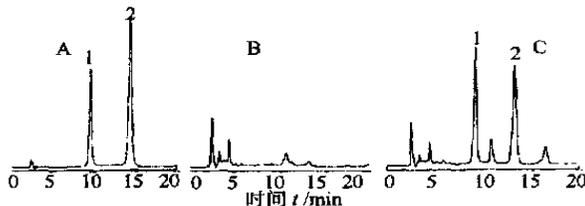
2.2 系统适用性试验: 理论塔板数按棘苔计算不低于 5 400, 该峰与其相邻色谱峰的分离度大于 1.4, 对称因子小于 0.93。理论塔板数按阿魏酸计算不低于 5 000, 该峰与其相邻色谱峰的分离度大于 1.5, 对称因子小于 0.98。同条件下分析阴性供试液, 发现其他药味成分不干扰棘苔和阿魏酸的测定。色谱图见图 1, 2。



1-棘苔
1-spinosin

图 1 棘苔对照品 (A)、缺酸枣仁的阴性对照 (B) 和酸枣仁汤 (C) 的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC of spinosin reference substance (A), negative sample (B), and SZRD (C)



1-对羟基苯甲醛 2-阿魏酸
1-p-hydroxybenzaldehyde 2-ferulic acid

图 2 阿魏酸对照品 (A)、缺川芎阴性对照 (B) 和酸枣仁汤 (C) HPLC 图谱

Fig 2 HPLC of ferulic acid reference substance (A), negative sample (B), and SZRD (C)

2.3 标准曲线的绘制

2.3.1 棘苔标准曲线的绘制: 取棘苔对照品约 12 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶液并加至刻度, 摇匀。精密吸取该溶液 2 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 0.1、0.2、0.4、0.8、1.2、1.4 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 精密取续滤液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 棘苔在 0.960~13.44 μg/mL, Y 与 X 呈良好线性关系。所得标准曲线方程为 $Y = 1.648 \times 10^{10} X - 1.742 \times 10^3$, $r = 0.9998$ 。

2.3.2 阿魏酸标准曲线的绘制: 取内标物对羟基苯甲醛约 36 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并加至刻度, 作为内标溶液。取阿魏酸对照品约 8 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并加至刻度, 摇匀。精密吸取该溶液 2.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密吸取此溶液 0.3、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 精密加入 1.0 mL 内标溶液, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 精密吸取续滤液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图。以阿魏酸峰面积与内标峰面积之比为纵坐标 (Y), 阿魏酸质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线。阿魏酸在 2.04~27.2 μg/mL Y 与 X 呈良好线性关系。所得标准曲线方程为 $Y = 0.0825 X - 0.0187$, $r = 0.9997$ 。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 棘苔供试品溶液的制备: 精密称取处方量 1/10 的药材以 95% 乙醇水浴回流提取。第一煎加入 10 倍量溶剂, 回流提取 1 h, 滤过; 滤渣再加入 8 倍量溶剂, 继续回流提取 1 h, 滤过。合并两次煎液, 挥干溶剂, 残渣用 30 mL 水溶解, 定量转移至 125 mL 分液漏斗中, 加入石油醚萃取 3 次, 每次 10 mL, 弃去醚层, 水层再加入水饱和正丁醇萃取 3 次, 每次 30 mL, 收集正丁醇层, 挥干正丁醇, 残渣用甲醇溶解, 定量转移至 25 mL 量瓶中。精密吸取该溶液 1.0 mL 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。精密称取除酸枣仁外其余 4 味药材, 同法制备缺酸枣仁阴性对照溶液。

2.4.2 阿魏酸供试液的制备: 煎煮方法及石油醚萃取同 2.4.1。弃去醚层后, 再加入氯仿萃取 3 次, 每次 30 mL, 收集氯仿层, 挥干, 残渣用甲醇溶解, 定量转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液备用。精密称取除川芎其余 4 味药材, 同法制备, 得缺川芎阴性对照溶液。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一份供试品溶液 20 μL , 重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算, 结果棘苷和阿魏酸峰面积 RSD 分别为 0.8% 和 0.6%。

2.6 重现性试验: 精密称取样品 6 份, 按供试品溶液制备项下方法平行制备, 进样分析, 测定棘苷和阿魏酸的质量浓度, 计算得 RSD 分别为 2.4% 和 2.2%。

2.7 回收率试验: 精密称取处方量药材的 1/20 (含棘苷 0.360 0 mg), 精密加入棘苷对照品 0.192 0、0.384 0、0.576 0 mg, 按 2.4.1 项下方法处理, 进样测定, 计算得平均回收率为 98.4%, RSD 为 2.5% ($n=6$)。取处方量药材的 1/20 (含阿魏酸 0.121 5 mg), 精密加入阿魏酸对照品 0.068 0、0.136 0、0.204 0 mg, 按 2.4.2 项下方法测定, 结果平均回收率为 98.8%, RSD 为 2.8% ($n=6$)。

2.8 含量测定: 精密吸取样品溶液 20 μL , 按上述色谱条件测定, 结果酸枣仁汤中棘苷和阿魏酸含量分别为 0.400、0.243 mg/g ($n=6$)。

3 讨论

3.1 本实验选择酸枣仁汤中君药酸枣仁和臣药川芎中的有效成分棘苷、阿魏酸为定量指标, 建立了测定其含量的 RP-HPLC 方法, 为制订酸枣仁汤的质量控制标准提供定量依据。

3.2 酸枣仁汤由 5 味中药组成, 成分极其复杂, 检测易受到干扰。本实验采用有机溶剂萃取的方法, 取得了很好的分离效果, 且重现性良好。

3.3 采用内标法定量阿魏酸, 可避免由于进样误差等对测定的影响, 使方法更准确、可靠。本实验在测定棘苷时曾尝试选用过多种内标物, 但均不能满足分析要求, 故最终采用外标法定量。

References

- [1] Yuan CL, Wang ZB, Jiao Y, *et al*. Study on the effect ingredients of sedation and hypnosis in Suanzaoren Decoction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1987, 12(9): 34-36.
- [2] Li Y J. Study on the therapeutic basis of traditional Chinese medicinal preparation Suanzaoren Decoction [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Shenyang Pharmaceutical University* (沈阳药科大学博士学位论文) [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2003

HPLC 法测定桃红四物汤中芍药苷和梓醇的含量

郭春燕, 张万明, 王治宝, 付煜荣, 张 力*, 王德宝, 白雪梅*

(张家口医学院, 河北 张家口 075000)

桃红四物汤出自《医宗金鉴》, 由桃仁、红花、当归、赤芍、生地、川芎组成, 活血调经, 主治血瘀所致的月经不调、痛经、闭经、崩漏以及眼底出血之暴盲者。是活血化瘀的代表方之一。为控制其内在质量, 本实验对其主要有效成分芍药苷、梓醇进行了测定, 结果表明本法准确、精密、重现性好。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 (美国 HP1100), TG—332A 精密天平 (十万分之一天平, 上海), KQ—500B 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

芍药苷、梓醇对照品 (中国药品生物制品检定所)。所用试剂均为分析纯, 所用 6 味药材均符合《中华人民共和国药典》2000 年版标准。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 芍药苷色谱条件^[1]: 色谱柱: YW G C₁₈ (250 mm × 4.6 mm); 流动相: 甲醇-磷酸二氢钾溶液 (40:60); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 25 °C; 进样体积: 10 μL 。

2.1.2 梓醇色谱条件^[2]: 色谱柱: YW G C₁₈ (250 mm × 4.6 mm); 流动相: 水-乙腈 (99.4:0.6); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 25 °C; 进样体积: 10 μL 。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取芍药苷对照品 10.00 mg (120 °C 干燥至恒重) 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得芍药苷对照品溶液。

精密称取梓醇对照品 26.8 mg (120 °C 干燥至

* 收稿日期: 2003-08-05

基金项目: 河北省科技厅攻关项目指导计划 (012761154); 张家口医学院青年基金资助项目 Q200103)

作者简介: 郭春燕, 女, 硕士, 副教授, 1989 年毕业于河北大学, 主要从事天然药物的研究和分析。

Tel: (0313) 8041654 E-mail: chy-guo@sohu.com

* 通讯作者 Tel: (0313) 8041688