

HPLC 法测定痛经宝颗粒中阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烯内酯和去氢木香内酯

王绪颖^{1,2}, 贾晓斌^{1*}, 陈彦^{1*}, 蒋俊^{1,2}

(1 江苏省中医药研究院中药新型给药系统重点实验室, 国家中医药管理局中药口服释药系统重点研究室,

江苏 南京 210028; 2 江苏大学药学院 江苏 镇江 212013)

摘要:目的 建立 HPLC 法同时测定痛经宝颗粒中阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烯内酯和去氢木香内酯 5 个成分的方法。方法 采用 Agilent HG C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.04% 磷酸水为流动相, 梯度洗脱, 检测波长 225 nm, 体积流量 1.0 mL/min。结果 5 个成分均能达到良好分离, 各成分平均回收率在 98.20%~100.01%。结论 本方法简便、准确、重复性好, 可更好地用于痛经宝颗粒的质量控制, 同时为研究痛经宝药效物质基础奠定了基础。

关键词: HPLC; 痛经宝颗粒; 阿魏酸; 肉桂酸; 桂皮醛; 木香烯内酯; 去氢木香内酯

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)10-1643-03

痛经宝颗粒是由当归、肉桂、木香等九味中药组成, 具有温经化瘀、理气止痛的功效, 主治妇女“寒湿凝滞、气滞血瘀”引起的痛经和月经不调等症, 取得满意疗效。2005 年版《中国药典》收录了该制剂的定性鉴别质量控制指标, 包括丹参中原儿茶醛、延胡索中延胡索乙素及木香药材的薄层色谱法, 未收载定量测定控制指标^[1]。有 HPLC 法测定制剂中阿魏酸^[2]或延胡索乙素的报道^[3-4]。

“三个层次多维结构”的组分结构理论^[5-6]认为中药复方的物质基础是由多组分构成的整体, 单一成分测定不能全面控制复方制剂质量。痛经宝方中当归是妇科要药, 有养血活血补虚功效, 肉桂温经散寒, 木香理气, 其余六味均活血化瘀, 方中多成分, 多组分协同作用, 共同构成了复方的物质基础。其中当归酚酸、肉桂挥发油、木香挥发油是其物质基础重要组成部分^[7], 阿魏酸是当归酚酸部分的主要成分之一, 阿魏酸具有抗血小板凝集和血栓^[8]作用, 缓解血瘀引起的经痛, 肉桂挥发油与木香挥发油均具有松弛平滑肌和解痉镇痛作用^[9-10], 阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烯内酯和去氢木香内酯是当归酚酸、肉桂挥发油、木香挥发油的代表性成分, 并是各组分中起主要药效活性的单体成分。因此建立同时测定阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烯内酯和去氢木香内酯 5 个成分的质控方法和指标, 能有效地控制痛经宝颗粒的质量。本实验建立的 HPLC 方法可以更加

全面、有效地控制本品的质量, 同时为研究痛经宝药效物质奠定了基础。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪; 十万分之一电子天平(Mettler Toleor 公司); KQ3200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

实验所用药材购自南京药业股份有限公司中药饮片厂, 当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 产地甘肃; 肉桂为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮, 产地广西; 木香为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne 的干燥根, 产地云南; 延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎, 产地浙江; 红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花, 产地河南; 三棱为黑三棱科植物黑三棱 *Sparganium stoloniferum* Buch.-Ham. 的干燥块茎, 产地江苏; 莪术为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val 的干燥根茎, 产地四川; 丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎, 产地安徽; 五灵脂为鼯鼠科动物复齿鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* Milne Edwards 的干燥粪便。以上药材均由江苏大学药学院欧阳臻教授鉴定。

阿魏酸(批号 0773-9809)、肉桂酸(批号 110786-200503)、桂皮醛(批号 110710-200212)、木香烯内酯(批号 111524-200503)和去氢木香内酯

①收稿日期: 2010-04-12

基金项目: 江苏省公益专项(BM2007701)

作者简介: 王绪颖(1986-), 在读硕士研究生, 研究方向: 中药物质基础研究。Tel: (025) 85637809 E-mail: qin19861217@163.com

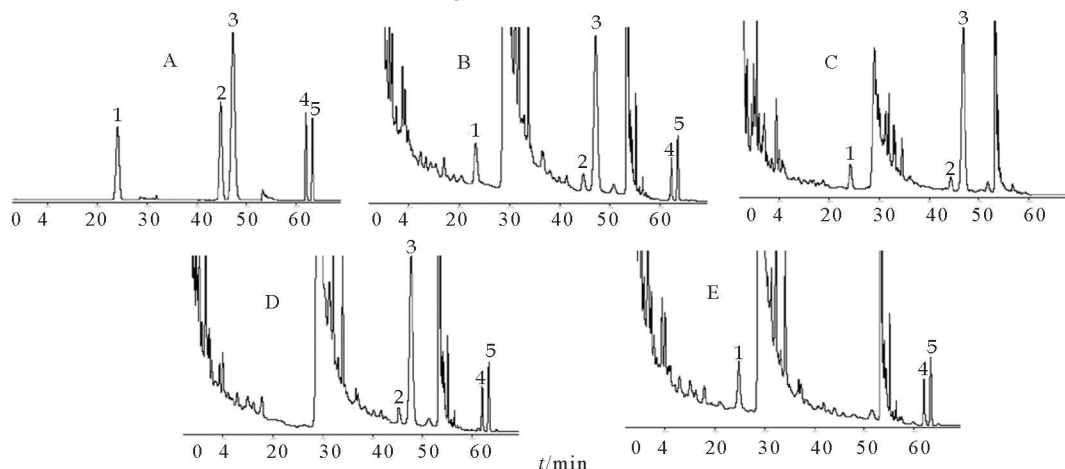
* 通讯作者 贾晓斌
陈彦

(批号 111525-200505) 均购自中国药品生物制品检定所。月月舒牌痛经宝颗粒(河南省宛西制药股份有限公司, 批号 061003, 060708, 070604), 乙腈为色谱纯(美国 Tedia 公司), 水为乐百氏纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性实验: 色谱柱 Agilent

HG-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈(A)-0.04% H₃PO₄(B) 0~25 min, 12% A; 26~50 min, 22% A; 51~70 min, 56% A; 检测波长 225 nm; 流量 1 mL/min; 进样量 20 μL。理论板数以肉桂酸计不低于 3 000, 5 个成分色谱峰与相邻未知色谱峰的分离度 > 1.5, 色谱图见图 1。



1 阿魏酸 2 肉桂酸 3 桂皮醛 4 木香烃内酯 5 去氢木香内酯

1 ferulic acid 2 cinnamic acid 3 cinnamaldehyde 4 costunolide 5 dehydrocurcumen

图 1 混合对照品(A)、痛经宝颗粒(B)、缺木香阴性对照(C)、缺当归阴性对照(D)、缺肉桂阴性对照(E)的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), Tongjingbao Granula (B), negative sample

without *A. lappa* (C), negative sample without *A. sinensis* (D), and negative sample without *C. cassia* (E)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取阿魏酸对照品 6.74 mg, 肉桂酸对照品 5.03 mg, 桂皮醛对照品 10.61 mg, 木香烃内酯对照品 3.43 mg 和去氢木香内酯对照品 3.48 mg 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品储备液, 精密吸取对照品储备液 2.0 mL 置 50 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 配制成混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取痛经宝颗粒 3 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.4 阴性样品溶液的制备: 按痛经宝颗粒的生产工艺制备缺当归、肉桂、木香的阴性制剂, 并按供试品溶液制备方法制备各阴性供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 空白干扰试验: 取阴性供试品溶液进样 20 μL, 测定, 结果阴性制剂对所测组分无干扰, 色谱图见图 1。

2.5.2 线性关系考察: 分别精密吸取混合对照品溶液 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 各置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 20 μL 进

样, 测定峰面积积分值。以对照品溶液的进样浓度为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得 5 个成分的回归方程和线性范围。阿魏酸: $Y = 63.609X - 9.64$, $r = 0.9998$, 线性范围 5.39~26.96 μg/mL; 肉桂酸: $Y = 100.5X - 2.08$, $r = 0.9998$, 线性范围 4.02~20.12 μg/mL; 桂皮醛: $Y = 105.68X - 8.61$, $r = 0.9996$, 线性范围 8.49~42.44 μg/mL; 木香烃内酯: $Y = 64.519X - 13.62$, $r = 0.9999$, 线性范围 2.74~13.72 μg/mL; 去氢木香内酯: $Y = 59.03X - 3.76$, $r = 0.9998$, 线性范围 2.78~13.92 μg/mL。

2.5.3 精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液 20 μL, 重复进样 6 次, 阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯的峰面积值的 RSD 分别为 1.01%、0.87%、0.91%、0.58%、1.36%。

2.5.4 重现性试验: 取批号为 061003 样品 6 份, 平行制备供试品溶液, 各取 20 μL 进样, 测得峰面积值, 根据峰面积值计算阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯的质量分数, 质量分数的 RSD 分别为 2.18%、1.81%、1.39%、1.75%、1.67%。

2.5.5 稳定性试验: 取批号为 061003 的供试品溶

液,在 0、2、4、6、8 h 点进样分析,测得峰面积值,阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯质量分数的 RSD 分别为 2.91%、1.31%、1.24%、0.91%、1.06%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.5.6 加样回收率试验:精密称取批号为 061003 的供试品 1.5 g 共 6 份,分别精密加入 10 mL 混合对照品溶液,按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液,按上述测定方法进行测定,计算回收率。结果阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯的回收率分别为 98.54%、99.21%、100.01%、99.12%、98.20%,RSD 分别为 1.08%、1.03%、1.17%、1.24%、1.36%。

2.5.7 样品的测定:取 3 个批号的痛经宝颗粒,制备供试品溶液,每批平行 3 份,每份进样 2 次,以回归方程计算各成分的质量分数,结果见表 1。

表 1 样品测定结果

Table 1 Determination results

批号	阿魏酸/ (mg·g ⁻¹)	肉桂酸/ (mg·g ⁻¹)	桂皮醛/ (mg·g ⁻¹)	木香烃内酯/ (mg·g ⁻¹)	去氢木香内酯/ (mg·g ⁻¹)
061003	0.1812	0.0988	0.8953	0.1448	0.1695
060708	0.1743	0.1014	0.9036	0.1503	0.1842
070604	0.1972	0.1129	0.9127	0.1678	0.1915

3 讨论

3.1 本实验建立了高效液相色谱法同时测定痛经宝颗粒中阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯 5 个成分的方法,为全面控制痛经宝制剂中与药效相关物质基础的质量提供了方法,为解析痛经宝药效物质基础创造了条件,丰富了组分结构理论。

3.2 为了尽可能全面反映痛经宝颗粒的化学信息,实验对供试品溶液的制备方法进行考察。选择甲醇、50% 甲醇、水进行提取,结果 50% 甲醇提取的样

品信息量较多,峰面积较大;选择回流、超声提取方法进行了比较,结果超声法所得峰面积为回流法的 95% 以上,考虑到操作的方便性,确定选择超声法;选择不同超声提取次数,结果 1 次超声 30 min 即能提取完全。

3.3 通过分别对 5 个对照品溶液的紫外波长扫描显示,阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯的最大吸收波长分别为 320、274、290、225、225 nm,实验过程中发现在 225 nm 处,所需检测的各峰分离度及峰形均佳,灵敏度也较高,所以检测波长选择 225 nm。

3.4 试验中选用多种流动相进行分析,如甲醇-水,甲醇-0.04% 磷酸水,甲醇-0.1% 磷酸水,乙腈-水,乙腈-0.04% 磷酸水。经多次试验,选择乙腈-0.04% 磷酸水,并反复调整洗脱程序,最终以本研究中的梯度洗脱程序来分离样品,所检测的 5 个成分的分离效果,保留时间及理论塔板数都较为理想。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 王富丽,袁振营,陈洪英. 高效液相色谱法测定痛经宝颗粒中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(2): 15-16
- [3] 杨晓秋,张明林. RP-HPLC 法测定痛经宝颗粒中延胡索乙素的含量[J]. 医药产业资讯, 2006, 3(20): 138-139
- [4] 施亚芳,贾晓斌,范晨怡,等. 痛经宝胶囊的质量标准研究[J]. 中成药, 2008, 30(3): 451-452
- [5] 贾晓斌,陈彦,李霞,等. 中药复方物质基础研究新思路和方法[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 420-425
- [6] 施峰,贾晓斌,陈彦,等. 中医方药物质基础名词术语标准化探讨[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1179-1181
- [7] 王丽静. 痛经宝处方优化及其微丸制剂学研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2009
- [8] Ogiwara T, Satoh K, Kadoma Y, et al. Radical scavenging activity and cytotoxicity of ferulic acid [J]. Anticancer Res, 2002, 22(5): 2711-2717
- [9] 董万超. 肉桂的利用及药理作用[J]. 特种经济动植物, 2001(6): 431
- [10] 王峻,肖洪彬. 木香抗实验性胃溃疡的药效学研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2008

鼻渊舒软胶囊的质量标准研究

解学星^{1,2}, 胡雅萍³, 刘毅², 刘素香², 高文远^{1*}, 陈常青²

(1 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2 天津药物研究院, 天津 300193;

3 天津药物研究院药业有限责任公司, 天津 300193)

摘要:目的 建立鼻渊舒软胶囊的质量标准, 控制制剂的质量。方法 采用薄层色谱法对制剂中组成药味白芷、栀子、川芎进行鉴别, 并建立方法学考察, 采用 HPLC 法测定制剂中的栀子苷。结果 白芷、栀子、川芎的薄层色谱中阴性对照无干扰。栀子苷在 0.086 9~1.737 6 μg 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.78%, RSD 为 0.81%。结论 建立的薄层色谱和高效液相色谱定性、定量方法可以用来控制鼻渊舒软胶囊的质量, 方法简便可行。