

配伍熟地可增加汤剂中阿魏酸的煎出率[△]

第四军医大学西京医院临床药理基地(西安 710032) 尚刚伟* 蒋永培 黄 熙 樊亚莹

摘 要 用反相高效液相色谱法测定了川芎单煎剂,川芎、丹参合煎剂,川芎、当归合煎剂及改味四物汤中阿魏酸的含量。结果表明,各组汤剂中阿魏酸的含量有显著差异($P < 0.001$),配伍熟地对阿魏酸的溶出具有助溶作用。

关键词 阿魏酸 熟地 煎剂 高效液相色谱法

阿魏酸(ferulic acid, FA)是川芎、当归中主要成分之一,具有抗氧化,抑制血栓形成,增加冠脉流量,改善心肌缺血,抑制胶原和 ADP 诱导的血小板聚集作用。最新研究还表明,FA 是一种子宫收缩抑制剂,谷胱甘肽 S-转移酶抑制剂,并且具有抗肿瘤和抗炎作用。中医临床“四物汤”为著名的妇科经方。为了开展中药临床复方效应成分药代动力学的研究,探讨中药主要单体由于中药配伍导致的变化规律,我们采用改味“四物汤”通过中药自身有效成分 FA 作为检测指标,研究了 RP-HPLC 法测定临床用药改味“四物汤”中 FA 的溶出量。

1 仪器和药品

岛津 LC-6A 高效液相色谱系统,SPD-6AV 紫外检测器,二台 LC-6A 高效输液泵,7125 型手动式进样注射器,C-R3A 色谱数据处理系统。

样品:中药饮片川芎购自四川都江堰市医药公司,经肖光泽主任药师鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,饮片的平均厚度为 4.1 mm;当归购自西安市药材公司,经肖光泽主任药师鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.)

Diels 的干燥根;熟地购自西安市药材公司,经肖光泽主任药师鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的根,经加工炮制而成。

阿魏酸标准品(中国药品生物制品检定所),内标物香豆素购自于 Sigma(USA)公司。

2 色谱条件^[1]

色谱柱:Lichrosorb RP C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相:甲醇-乙酸-水(38:0.3:61.7 V/V)用前超声脱气 20 min,流速 1.0 mL/min,紫外检测波长 320 nm,灵敏度:AUFs=0.01。

3 标准曲线

精取 FA 标准稀释液(0.006 μg/μL),2.5、5、10、20、50、100、200、400、800、1600 μL,分置 10 mL 容量瓶中用双蒸水稀释至 10 mL,摇匀各取 1 mL,加内标(42 μg/mL)20 μL,摇匀,3000 r/min,离心 10 min 后取 20 μL 进样,以峰面积法由色谱数据处理机 C-R3A 自动打印药物 FA 及内标香豆素的峰面积,由峰面积比对映浓度作回归计算。得回归方程为 $C = 432.11X + 1.8841$, $r = 0.9996$ ($n = 6$),FA 在 12 ng~960 ng/mL 范围

* Address: Shang Gangwei, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xian

尚刚伟 男,1985 年沈阳药学院(现为沈阳药科大学)毕业。现在西安第四军医大学西京医院药剂科,主要从事新药、新制剂及临床药理方面的工作,主管药师。负责完成了(93)卫药准字 D-03-3 号“脲酶法测定血清(浆)中尿素氮试剂盒”的研制申报工作,协同完成了(第二作者)(93)卫药准字 D-22-8 号“葡萄糖氧化酶法测定血糖试剂盒”的研制,先后参加国家自然科学基金资助项目两项,协助 1 项,在全国性刊物发表论文 10 余篇。

△国家自然科学基金资助项目 No 39100139

内呈良好线性,最低检出浓度为6 ng/mL (S/N=3.5)平均回收率为 99.94%±3.67%。

表 1 FA 回收率及精密度试验(n=6)

加入量 (μg/mL)	测得量±S (μg/mL)	回收率±RSD (%)	日间 RSD (%)
0.0300	0.0295±0.0027	98.22±8.83	2.77
0.2400	0.2430±0.0039	101.27±1.60	0.81
0.9600	0.9632±0.0057	100.34±0.59	0.39

4 检样的制备及测定

取 a)川芎 10 g;b)川芎 10 g+丹参 20 g;c)川芎 10 g+当归 20 g;d)川芎 10 g+当归 10 g+丹参 10 g+熟地 10 g,各组分别放入 250 mL 烧杯中,加水没过生药(5 倍总生药量)浸泡 2 h,煎沸 15 min,趁热过滤,药渣重复煎提 1 次,合并药液,药渣过滤后总药量稀至 500 mL,终浓度以川芎计算为 0.02 g/mL。取 1 mL 终浓度原液置 50 mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀。取 1 mL 加内标香豆素(42 μg/mL)20 μL,摇匀,3 000 r/min,离心 10 min 后取 20 μL 进样,结果如表 2

表 2 各类煎液中 FA 的溶出量(n=3)

样品	FA IS 峰面积比	C (μg/mL)	汤剂中 FA 含量 (50 mL)mg/mL
川芎	0.7265±0.0040	0.3158±0.0036	0.1579±0.0018
川芎、丹参	0.6834±0.0079	0.2972±0.0053	0.1486±0.0026 *
川芎、当归	0.7586±0.0030	0.3297±0.0032	0.1648±0.0016
改味“四物汤”	0.8826±0.0080	0.3833±0.0053	0.1916±0.0027 *

* P<0.001

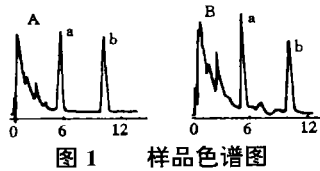


图 1 样品色谱图

A-川芎 10 g+当归 20 g 合煎 B-川芎 10 g+当归 10 g+丹参 10 g+熟地 10 g 合煎,a 为 FA($t_R=5.883$ min),b 为香豆素($t_R=9.738$ min)。

5 结果与讨论

中药汤剂多为复方,每种生药又含有多 种化学成分,临床共煎过程中可能产生挥发、分解、助溶、吸附、水解、取代、中和、沉淀等一系列十分复杂的化学物理变化,这些变化直接影响到制剂的疗效和毒副作用^[2]。改味的“四物汤”(川芎、当归、丹参、熟地)具有较强的活血化瘀作用,临床主要用于心血管疾病,我们针对方剂的药剂环节观察了其汤剂中 FA 的溶出量及影响因素。结果表明:各组汤剂中 FA 的含量有显著性差异($P<0.001$),配伍不含 FA 中药的汤剂中 FA 含量降低,配伍熟地可增加汤剂中 FA 的煎出率。采用 HPLC 色谱法及药渣经氯仿萃取 FA 含量测定分析,汤剂中 FA 含量差异主要是由于药渣的吸附作用和未溶出引起。

熟地含有梓醇地黄素、维生素 A 类物质、地黄多糖等多种化学组分,其中果胶类多糖、胶质类成分可能在汤剂中对 FA 的溶出起助溶作用^[3,4,5]。

改味“四物汤”在煎煮过程中,也可能发生了十分复杂的物理化学变化,但从实验结果表明,对 FA 的影响较小。

参考文献

1 尚刚伟,等.中国药学杂志,1997,32(12):761
2 黄 熙,等.中药药理与临床,1993,9(4):37
3 木方正,等.药学杂志,1992,112(6):393
4 CPI(B),1994,(9413):52
5 Tomoda M. Chem Pharm Bull.1994,42(3):625
(1997-08-18 收稿)

An Increase Extraction Rate of Ferulic Acid in Decoction of Medicinal Herbs with the Compatibility of Radix Rehmanniae

Shang Gangwei,Jian Yongpei,Huang Xi,et al (Clinical Pharmacology Laboratory of Xijing Hospital,Xian 710032)

Abstract A simple,rapid,and sensitive reversed phase high performance liquid chromatographic (Rp-HPLC) method for the analysis of ferulic acid(FA) in decoctions of medicinal herbs has been developed. The contents of FA in decoctions of Rhizoma chuanxiong,Rhizoma chuanxiong and Radix *Salviae miltiorrhizae*, Rhizoma chuanxiong and Radix *Angelica sinensis*,and modified "siwutang" were determined by this Rp-HPLC method. Results showed that the contents of FA in these decoctions differed significantly ($P<0.001$). An in-

creased extraction rate of FA was obtained with the compatibility of Radix Rehmanniae, which acted as a solubilizing agent for FA.

Key Words Ferulic acid Radix Rehmanniae clinical decoction HPLC

高效液相色谱法测定抗病毒口服液连翘甙的含量

沈阳药科大学天然药化教研室(110015) 张国刚* 徐绥绪

摘要 应用高效液相色谱法测定抗病毒口服液中连翘甙的含量,回收率为 $100.6\% \pm 2.24\%$, 相关系数为 0.9999 , $RSD\% = 1.05\%$ 。本法可控制抗病毒口服液的质量。

关键词 抗病毒口服液 连翘甙 高效液相色谱法

抗病毒口服液是由连翘、知母、板蓝根等9味中药制成的中药制剂,用于治疗病毒感染引起的疾病。连翘是木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实,具有清热解毒、宣散风热、消痛散结之功。近年来药理研究证明连翘有较广的抗菌作用,对 G^+ 、 G^- 菌及流感病毒有明显抑制作用,能反映抗病毒口服液的药效。连翘中成分复杂,连翘酯甙、咖啡酸、芦丁、连翘甙及连翘脂素等为其有效成分^[1]。另外,在实验中,我们发现连翘甙在高效液相色谱柱分离中很容易和连翘中乃至样品中所含其它成分分开,其化学性质稳定,在 277 nm 紫外区有最大吸收,重现性较好。因此,我们选择了连翘甙作为指标成分,应用高效液相色谱法进行含量测定,以控制抗病毒口服液的内在质量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:Perkin Elmer 公司(美国),1022-LC 色谱工作站,200 泵,LC 295 UV~VIS 检测器。溶剂过滤器(津腾牌),超声振荡仪(江苏昆山淀山湖检测仪器厂生产),样品过滤器(大连化物所生产),微量进样器(HAMILTON 公司生产,美国),氯仿、甲醇(色谱纯),对照品连翘甙(中国药品生物

制品检定所)。

抗病毒口服液:广州市花城制药厂(批号 961010 市售)。

2 色谱条件

2.1 连翘甙最大检测波长的选择:见紫外吸收光谱图 1。

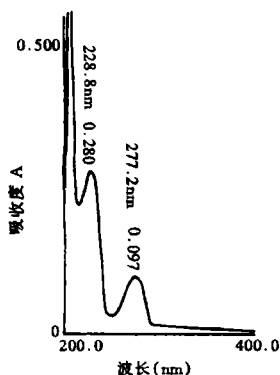


图1 连翘甙紫外光谱图

2.2 测试条件:色谱柱:键合氨基柱(4.6 mm×25 cm, 10 μ m, 大连化物所),流动相:氯仿-甲醇(6:1),检测波长:277 nm,流速:1 mL/min,纸速:3 mm/min,灵敏度:0.02, RES:FAST,进样量:20 μ L。

色谱图见图 2。

3 工作曲线的考察

精密吸取连翘甙对照品 10 mg 置于 10

* Address: Zhang Guogang, Department of Phytochemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang

张国刚 男,天然药物化学专业,硕士,工程师。主要科研成果:新药“抗病毒口服液”的主要研制者,获卫生部新药证书,荣获国家医药管理局科技进步三等奖;新药“双清口服液”的主要研制者,获卫生部新药证书,荣获国家医药管理局科技进步三等奖;“气滞胃痛冲剂”的改型换代产品“气滞胃痛胶囊”质量标准的主要研制者;新药“抗病毒水针剂”的主要研制者。其中硕士论文:“抗病毒水针剂”化学成分及其质量标准的初步研究受到专家的好评;新药“糖脂双降茶”质量标准的主要研制者。