

测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.81%, RSD 为 1.3 ($n=6$)。

2.9 样品测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL , 按上述色谱条件进样测定, 计算二苯乙烯苷含量, 结果见表 1。

表 1 首乌补肾酒中二苯乙烯苷的含量 ($n=3$)

Table 1 Stilbene glycoside in Shouwu Bushen Tinctura ($n=3$)

批号	二苯乙烯苷/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/%
020701	0.282	0.7
020702	0.269	1.2
020703	0.290	0.4

3 讨论

3.1 提取溶剂选择: 试验用流动相 甲醇, 50% 甲醇分别稀释至刻度, 离心, 取上清液, 过滤膜 (0.45 μm), 取续滤液, 进样 10 μL , 记录色谱图, 结果含量基本一致。根据取溶剂与流动相接近为佳, 并且考虑

到流出曲线的饱和时间, 因此选择 50% 甲醇为提取溶剂。

3.2 提取条件选择^[3]: 试验用 50% 甲醇直接稀释至刻度, 超声提取 10, 20, 30, 45 min, 结果发现测得含量基本一致。考虑到试验操作越简单越好, 因此选择直接稀释提取。

3.3 试验采用 DAD 检测器进行峰纯度检测, 纯度达到 99.7%, 所以未做阴性对照试验。

References

- [1] Zhu B H, Liang Y Y. Determination of icaritin in Haima Baiji Pill by HPLC combined with solid-phase extraction of Sep-Pak C₁₈ cartridges [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药) 1999, 21 (10): 500.
- [2] Li J F, Zhu B H, Fang J H, et al. Effect of Shenkang Injection on proliferation and fibronectin secretion of glomerular endothelial cells [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2001, 12(4): 287.
- [3] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed Vol 1.

HPLC 法测定川芎及天芎注射液中阿魏酸的含量

黄东萍¹, 文东旭², 林文翰^{3*}

(1. 广西大学化学化工学院, 广西 南宁 530004; 2. 广西药品检验所, 广西 南宁 530021; 3. 北京大学 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

天芎注射液由川芎、天麻两味中药组成, 用于偏头疼、老年痴呆、头风眩晕、目系眩急、身体拘倦等症。方中川芎的主要成分为阿魏酸。现代药理研究表明, 阿魏酸有抑制血小板聚集、降低血小板活性和改善微循环的作用, 是天芎注射液中的有效成分之一。因此, 本实验选择阿魏酸作为定量指标, 采用 RP-HPLC 法测定川芎及天芎注射液中阿魏酸的含量, 方法快速、方便、专属。

1 仪器与试剂

Waters 600E 泵, Waters PDA 996 检测器, Waters 717 自动进样器, Waters Millennium³² 色谱工作站。川芎, 四川产, 鉴定为川芎 *Ligusticum sinense* Hort 的根茎; 天芎注射液由广东彼迪药业有限责任公司提供, 阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供, 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Inertsil ODS-3 (250 mm $\times$

4.6 mm, 5 μm) (日本 GL Sciences Inc); 流动相: 甲醇-1% 醋酸溶液 (35:65); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 320 nm。

2.2 川芎药材供试品溶液的制备: 取本品粉末约 0.2 g (同时另取本品粉末按《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 IX H 第一法测定水分), 精密称定, 置量瓶中, 精密加 30% 乙醇 10 mL, 称定质量, 静置 24 h, 振摇后再超声处理 20 min, 再称定质量, 用 30% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 静置。取上清液离心, 即得。

2.3 天芎注射液供试品溶液的制备: 精密量取天芎注射液 30 mL, 加水饱和正丁醇提取 6 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 减压蒸干, 残渣加温热的甲醇-5% 醋酸溶液 (1:4) 溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 放冷, 加甲醇-5% 醋酸溶液 (1:4) 至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备: 取天麻干粉 0.3 g (相当于不含川芎的天芎注射液 100 mL), 按天芎注射液制备方法制成阴性样品, 再按上述方法制备阴性对

照溶液。

2.5 线性范围考察: 精密称取阿魏酸对照品 10 mg 于 100 mL 量瓶中, 加甲醇-5% 醋酸溶液(1:4)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 冰箱内贮存, 备用。精密吸取对照品储备液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇-5% 醋酸溶液(1:4)稀释至刻度, 各进样 20 μ L, 记录峰面积。以对照品溶液浓度(C)与其相应峰面积(A)进行回归处理, 得回归方程 $Y = 4.9909 \times 10^6 X + 2.5688 \times 10^4$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.1~1.2 μ g。

2.6 精密度试验: 取阿魏酸对照品溶液, 重复进样 6 次, 记录阿魏酸峰面积, 结果 RSD 为 0.53%。

2.7 重现性试验: 取同一批号样品 5 份, 按上述方法测定阿魏酸的含量, 结果川芎药材的 RSD 为 1.53%, 天芎注射液为 1.38%。

2.8 稳定性试验: 取同一批号供试品溶液, 在 0, 1, 4, 8, 12, 24 h 分别进样 20 μ L, 记录峰面积, 结果阿魏酸峰面积的 RSD 川芎药材的为 1.06%, 天芎注射液的为 1.06%, 表明供试品溶液在 24 h 内均稳定。

2.9 回收率试验

2.9.1 川芎药材回收率试验: 采用加样回收法。精密称取同一批号的本品粉末 0.1 g 各 5 份(批号 10, 含量为 0.165%, 水份为 8.15%), 置 25 mL 量瓶中, 分别精密加入阿魏酸对照贮备溶液(称取阿魏酸对照品 8.54 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度, 浓度为 0.0854 mg/mL) 1.6 mL 各 3 份、2.2 mL 各 2 份, 精密加 30% 乙醇至溶剂总量为 10 mL, 称定质量, 静置 24 h, 振摇后再超声处理 20 min, 再称定质量, 用 30% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 静置。取上清液离心, 作为供试品溶液。另精密配制含阿魏酸 20 μ g/mL 的对照品溶液, 进样, 记录峰面积, 外标法计算。结果平均回收率为 101.0%, RSD 为 1.07% ($n = 5$)。

2.9.2 天芎注射液回收率试验: 采用加样回收法。精密量取天芎注射液 15 mL 各 5 份(批号 20011105, 含量为 0.687 mg/支), 分别精密加入阿魏酸对照贮备溶液(称取阿魏酸对照品 9.21 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 精密量取 10 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 浓度为 0.01842 mg/mL) 5.0 mL, 加水饱和和正丁醇提取 6 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 减压蒸干, 残渣加温热的甲醇-5% 醋酸溶液(1:4)溶解, 定量转移至 10 mL 量瓶中, 放冷, 稀释至刻度, 摇

匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。另精密配制含阿魏酸 20 μ g/mL 的对照品溶液, 进样, 记录峰面积, 外标法计算, 结果平均回收率为 99.3%, RSD 为 2.00% ($n = 5$)。

2.10 样品测定: 吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μ L, 依法测定, 样品与对照品在同一保留时间里有一相应的色谱峰, 阴性对照溶液无干扰, 见图 1。取川芎药材和天芎注射液样品, 按上述方法测定阿魏酸的含量, 结果见表 1, 2。

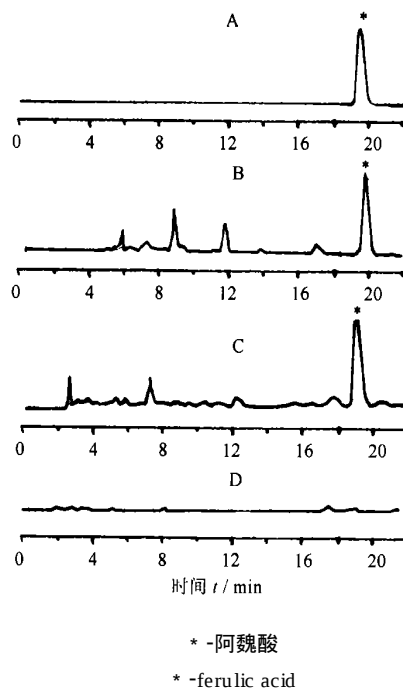


图 1 阿魏酸(A)、川芎药材(B)、天芎注射液(C)和阴性对照(D)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of ferulic acid (A), Rhizoma Chuanxiong (B), Tianxiong Injection (C), and negative sample (D)

表 1 川芎药材中阿魏酸的含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Ferulic acid in rhizome of *L. chuanxiong* ($n = 3$)

批号	阿魏酸/%	批号	阿魏酸/%
1	0.15	6	0.15
2	0.15	7	0.15
3	0.16	8	0.15
4	0.14	9	0.16
5	0.15	10	0.17

表 2 天芎注射液中阿魏酸的含量测定结果 ($n = 3$)

Table 2 Ferulic acid in Tianxiong Injection ($n = 3$)

批号	阿魏酸/(mg·支 ⁻¹)
20011101	0.68
20011102	0.75
20011103	0.67
20011104	0.75
20011105	0.69

3 讨论

3.1 文献报道阿魏酸水溶液随时间推移,阿魏酸HPLC峰峰面积不断下降^[1],亦有文献报道灌装于安瓿中的阿魏酸水溶液分解10%的时间为19个月^[2]。预试表明阿魏酸水溶液配制放置48 h后,阿魏酸含量即明显下降。但本品常温放置6个月,阿魏酸含量基本稳定,说明注射液虽为水溶液,但密封保存可使阿魏酸含量基本保持稳定,故可选用阿魏酸作为天芎注射液的含量测定指标。

3.2 溶剂的选择:取川芎粉末适量,分别以水、甲醇、10%乙醇、20%乙醇、30%乙醇、40%乙醇、50%乙醇为溶剂,静置后测定阿魏酸的含量。结果溶剂为水或乙醇浓度小于40%时,阿魏酸峰形好,和相邻峰能很好分离;且溶剂的乙醇浓度越高,阿魏酸提取率越高。故选择溶剂为30%乙醇。

3.3 提取时间的选择:取川芎粉末适量,以30%乙醇为溶剂,分别静置0、24、36 h测定阿魏酸的含量,结果静置24、36 h测得的阿魏酸的含量基本一致,说明静置24 h,阿魏酸可提取完全。

3.4 制备天芎注射液供试液的条件考察:阿魏酸能溶于醇、热水和醋酸乙酯,稍溶于乙醚,难溶于苯和石油醚。曾试验取天芎注射液用醋酸乙酯、乙醚、正丁醇等溶剂提取,结果用醋酸乙酯或乙醚,提取溶液极易乳化,采用盐析、加热、放置等方法均不能完全分层;经试验用水饱和的正丁醇溶液提取不乳化,提取6次能将阿魏酸提取完全,故采用正丁醇提取。合并正丁醇提取液,减压蒸干,残渣曾试验用热水、甲醇、温热的甲醇-5%醋酸溶液(1:4)为溶剂溶解。结果以热水、甲醇为溶剂时阿魏酸易分解为双峰;以温热的甲醇-5%醋酸溶液(1:4)为溶剂,阿魏酸溶液在冰箱放置10 d基本不变,故残渣用温热的甲醇-5%醋酸溶液(1:4)溶解稀释制成供试品溶液。

References

- [1] Jia X B, Shi Y F, Huang Y P. Improvement of HPLC determination of ferulic acid in *Radix Angelicae Sinensis* and *Rhizoma Chuanxiong* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 37-38.
- [2] Li X L, Zhou Z K. Study on the stability of ferulic acid solution [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1993, 15(8): 5-6.

HPLC法测定清咽滴丸中胆红素的含量

姜玉凤¹, 许 岚¹, 边兴坤¹, 孟庆军^{2*}

(1. 天津市长征医院, 天津 300021; 2. 天津市第六中药厂, 天津 300401)

清咽滴丸由中新药业集团天津市第六中药厂生产,由牛黄、青黛、冰片、薄荷脑等多味中药组成,是治疗风热喉痹(急性咽炎)的常用药。牛黄为君药。为了更好地控制该药的质量,本实验采用HPLC法对胆红素进行测定^[1-3]。该方法准确、可靠,重现性好,易于掌握。

1 仪器与试剂

日本岛津LC-10A高效液相色谱仪,CR-4A色谱仪,SPD-2A S紫外检测器。清咽滴丸(天津市第六中药厂),胆红素对照品(中国药品生物制剂检定所提供,批号:0785-0110,供含量测定用),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: C₁₈ ODS柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μm);流动相: 甲醇-二甲基亚砜-2%醋酸(51:34:15);检测波长: 450 nm;柱温: 30℃;灵敏

度: 0.05 AUFS;进样量: 20 μL。色谱图见图1。

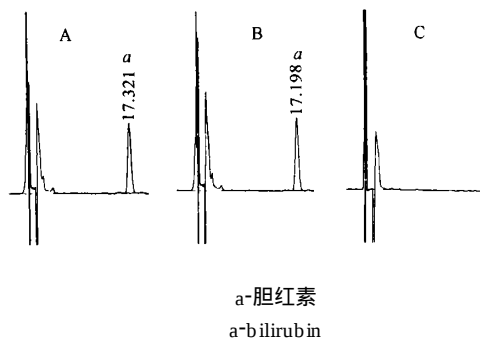


图1 胆红素(A)、清咽滴丸(B)和阴性对照(C)的HPLC图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of bilirubin (A), Qing-yan Dropping Pill (B) and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取胆红素对照品5.63 mg,置100 mL棕色量瓶中,用氯仿-冰醋酸(4:1)超声震荡10 min;并用氯仿-冰醋酸(4:1)稀