

溶液, 重复进样 5 次, 记录阿魏酸吸收峰峰面积, 结果 RSD= 0.6% ($n=5$)。

2.2.8 稳定性试验: 照上述色谱条件, 取批号为 951212 样品, 制备供试品溶液, 于 0、1、2、4、6、12 h 进行含量测定, 记录阿魏酸吸收峰峰面积, 结果供试品溶液在 12 h 内基本稳定, RSD= 1.7% ($n=6$)。

2.2.9 重现性试验: 取同一批样品(批号为 951212), 平行制备 5 份供试品溶液, 分别进行阿魏酸质量分数测定, RSD= 1.2% ($n=5$)。

2.2.10 回收率试验: 精密取已知含量的同一批样品 6 份(批号为 951212, 阿魏酸质量分数为 0.058 mg/片), 回流提取前分别精密加入阿魏酸对照品(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 3, 4, 5 mL, 水浴挥干, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定时进样量均为 5 μL , 计算回收率。结果平均回收率为 100.4%, RSD= 1.1% ($n=6$)。

2.2.11 样品含量测定: 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 取供试品溶液和对照品溶液, 分别进样, 测定 3 批样品中阿魏酸含量, 结果见表 1。

表 1 骨质增生一贴灵中阿魏酸的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Content of ferulic acid in Guzhi Zengsheng Yitieling ($n=3$)

批号	阿魏酸/(mg·片 ⁻¹)	RSD/%
951212	0.058	2.1
960310	0.084	2.8
960330	0.066	2.3

3 讨论

曾采用甲醇回流提取供试品, 但该法选择性较差, 所制得的供试品溶液按上述色谱条件, 60 min 峰仍未出完, 且阿魏酸峰和杂质峰重叠, 利用阿魏酸和强碱成盐更易溶于水的性质, 采用 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液提取, 只提出酸性成分, 而多数中性及挥发性成分则保留在基质中, 色谱测定结果也表明阿魏酸峰分离较好, 色谱图在 20 min 内记录完毕。由于水和基质性质差异较大, 影响水和包藏在基质中的药物接触, 故采用水浴回流提取, 并延长提取时间, 实验结果表明, 提取 6 h 后, 基质中已检不出阿魏酸存在。提取液酸化后有大量沉淀, 加乙醚提取后沉淀消失, 提取 4 次后, 水液中已检不出阿魏酸。

RP-HPLC 法测定脉络宁注射液中滨蒿内酯的含量

李文莉, 汪文涛, 雷玉萍, 蒋丽*
(湖南省药品检验所, 湖南长沙 410001)

脉络宁注射液由金银花、牛膝、玄参、石斛制成, 具有清热养阴, 活血化瘀的功能, 用于血栓闭塞性脉管炎, 静脉血栓形成, 动脉硬化性闭塞症, 脑血栓形成及后遗症等。方中石斛含生物碱、多糖、滨蒿内酯、阿牙品等成分。关于滨蒿内酯的含量测定方法有薄层扫描法的报道^[1]。本研究采用 RP-HPLC 法测定其中滨蒿内酯的含量。

1 仪器与试剂

Waters 244 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器, N2000 色谱工作站。

滨蒿内酯对照品(由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 1511-200001, 纯度为 98.7%); 甲醇为色谱纯, 乙醇为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil 柱(200 mm ×

4.6 mm, 4.6 μm); 流动相: 乙腈-水(20:80); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 343 nm; 灵敏度: 0.1 AUFS; 柱温: 室温(24 $^{\circ}\text{C}$); 进样量: 10 μL 。在上述色谱条件下, 滨蒿内酯峰保留时间约为 21 min。

2.2 线性关系的考察: 精密吸取滨蒿内酯对照品溶液(21.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 5.0、5.0、10.0、3.0、5.0 mL 分别于 100、50、50、10、10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度。各取 20 μL 进样测定, 记录峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为 $Y=394927.03X-374.36$, $r=0.9999$ 。结果表明滨蒿内酯在 0.042~0.42 μg 线性关系良好。

2.3 精密度试验: 精密吸取同一供试品溶液 20 μL , 连续进样 5 次, 测定滨蒿内酯峰面积, 结果 RSD= 2.23%。

2.4 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 分别在 0、

4、22、24、28、36 h 精密吸取 20 μL , 进样, 测定, 记录滨蒿内酯峰面积, 其 RSD = 2.66%。结果表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.5 重现性试验: 取同一批样品按拟定的方法测定 5 份, 滨蒿内酯质量浓度为 4.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$, RSD = 3.02%。

2.6 回收率试验: 取已知含量的样品 15 mL, 精密加入滨蒿内酯对照品适量, 照拟定的方法测定, 结果平均回收率为 96.12%, RSD = 2.37% ($n = 5$)。

2.7 阴性对照试验: 按成品工艺及供试品提取方法制成缺石斛的阴性对照, 在与样品测定相同的色谱条件下测定, 结果阴性对照在与滨蒿内酯峰相同保留时间处未见色谱峰, 表明阴性无干扰。见图 1。

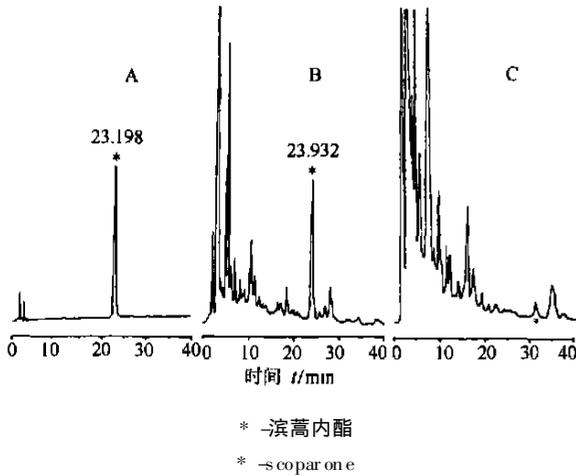


图 1 滨蒿内酯对照品(A)、脉络宁注射液(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of scopolamine reference substance (A), Mailuoning Injection (B), and negative sample (C)

2.8 样品的测定: 取本品 50 mL 于分液漏斗中, 加氯化钠 5 g, 加氯仿提取 6 次, 每次 30 mL, 合并氯仿提取液, 蒸干, 残渣加 60% 甲醇溶解并定容至 25 mL, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 吸取 20 μL 进样测定, 结果见表 1。

表 1 脉络宁注射液中滨蒿内酯的含量测定结果 ($n = 2$)

Table 1 Scopolamine in Mailuoning Injection ($n = 2$)

批号	滨蒿内酯 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
991203	2.91
991204	4.52
991205	4.49

2.9 药材中滨蒿内酯的含量测定: 取石斛药材粉末 0.5 g, 加水煎煮 2 次, 每次加水 50 mL, 煎煮 1 h, 合并煎液, 浓缩至 20 mL, 用氯仿提取 6 次, 每次 20 mL, 合并氯仿提取液, 蒸干, 残渣加 60% 甲醇溶解并定容至 50 mL, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 吸取 20 μL 进样测定, 结果见表 2。

表 2 石斛药材中滨蒿内酯含量测定结果

Table 2 Content of scopolamine in *Herba Dendrobii*

编号	滨蒿内酯 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	1.47
2	4.20
3	22.36
4	62.00
5	45.80

3 讨论

3.1 提取方法的选择: 曾采用样品直接进样测定, 发现因杂质太多, 对色谱柱的损耗较大, 因此对样品采用氯仿提取, 消除一部分杂质。回收率试验表明, 该提取方法能将滨蒿内酯完全萃取。

3.2 检测波长的选择: 经对滨蒿内酯的紫外吸收光谱的测定, 其吸收峰波长分别为 343.8、294.0、230.8 nm, 因 230.8 nm 与溶剂的末端吸收较接近, 而 343.8 nm 处的吸收系数比 294.0 nm 处的大, 故选择 343 nm 作为检测波长。

3.3 流动相的选择: 经过乙腈-水(1:5.4)、(1:4)下所得色谱图的比较, 确定为乙腈-水(1:4), 体积流量为 1 mL/min。

3.4 从药材含量测定的色谱图中观察到滨蒿内酯与其后面的一个色谱峰面积相当。根据文献^[2,3]报道, 估计是泽兰内酯。但成品含量测定的色谱图中滨蒿内酯后的色谱峰面积相对较小, 初步估计泽兰内酯有向滨蒿内酯转变的倾向。是否如此还有待进一步的实验证实。

References:

[1] Drug Specifications Promulgated by Ministry of Public Health P. R. China (中华人民共和国卫生部药品标准) [S]. Vol 17. 1998.

[2] Zhu R Z, Jia X B, Gao J S. Study on chemical components of Mailuoning Injection [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14(5): 35.

[3] Zhu R Z, Jia X B. Study on quality standard of Mailuoning Injection [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1990, 12(1): 13-15.