

图2 样品 HPLC 指纹图谱相似度计算结果

Fig. 2 Results of similarity evaluation of samples' HPLC fingerprint

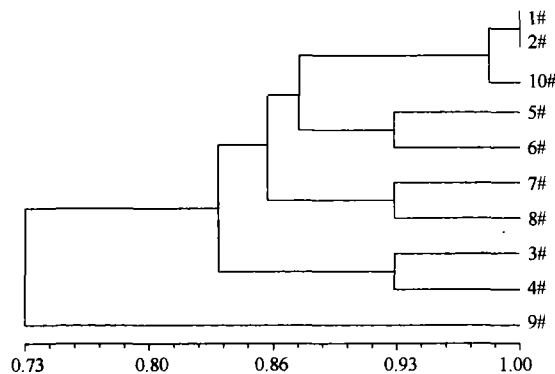


图3 样本指纹图谱聚类分析结果

Fig. 3 Clustering result of samples' fingerprints

的制剂之间的化学成分比较接近,这与相似度计算得到的结果基本吻合;此外,5#和6#聚为一小枝,7#和8#聚为一小枝,3#和4#聚为一小枝,而5#

和6#来源于同一批原料,7#和8#来源于同一批原料。

3.4 对于需测定指纹图谱的样品,其前处理应本着充分反映药材化学成分的原貌的原则;但通过对肿节风药材化学成分预试验发现,肿节风中含有大量的多糖,容易对色谱峰(尤其是反丁烯二酸的峰)产生干扰。而且注射液的生产工艺中采取了水提醇沉法去除杂质。因而对药材的前处理亦采取水提醇沉的方法。

3.5 中药色谱指纹图谱中包含大量有关组成中药的化学成分的信息,如何正确处理并合理利用指纹图谱提供的信息成为当前中药质量控制面临的难题。所以应当在大量实验数据积累的基础上,确定适合该种中药的测量参数、算法和指纹图谱整体相似度的限度值,从而建立其指纹图谱的标准。

References:

- [1] Ch P (中国药典), Vol 1. 2000.
- [2] Wang G L, Chen D F, Lin R C. Advances in chemical and quality control studies on *Herba Sarcandrae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(8): a-11-12.
- [3] Drug Standards Issued by the Ministry of Public Health, China; *Chinese Traditional Patent Medicine* (中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂) [S]. WS₃-B-2729-97. 1997.

HPLC 法测定含川芎当归的常见煎剂中阿魏酸的含量

屈 扬, 黄 熙*, 任 平, 张 莉, 张珊红, 杨喜忠

(第四军医大学西京医院, 陕西 西安 710032)

川芎活血行气、祛风止痛, 是活血化瘀的常用中药之一; 当归补血活血、调经止痛润肠, 为补血要药。两者主要成分之一阿魏酸具有抗凝、抗血小板聚集、扩张微血管、增加冠脉流量、解除血管痉挛、防止血压升高等作用。本实验采用 HPLC 法测定不同配伍和煎煮条件对含有川芎当归的常见汤剂中阿魏酸含量的影响, 为含川芎当归复方的临床治疗药物监测^[1]以及生物方剂分析^[2]提供质量控制依据。

1 仪器与材料

贝克曼高效液相色谱仪, 165 可变波长双通道紫外-可见检测器。

阿魏酸对照品购于中国药品生物制品检定所, 纯度为 99.5%, 批号: 0773-9910; 醋酸、甲醇均为 AR 级, 水为自制三蒸水。川芎购自四川都江堰市医药公司石羊镇医药批发站, 当归购自甘肃岷县, 赤芍购自四川省中江市, 人工种植品, 为刮皮赤芍。均由西北大学生物解剖学教研室胡正海教授鉴定, 分别为伞科植物川芎 *Ligusticum wachilli* Hort. 的干燥根茎, 伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv) Diels 的干燥根, 毛茛科川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch 的干燥根。其他药材均以饮片形式购于西安市药材公司。

收稿日期: 2003-12-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070912)

作者简介: 屈 扬(1977—)女, 陕西西安人, 第四军医大学中西医结合临床硕士生, 研究方向为中药复方药理学。

* 通讯作者 E-mail: tcmwsh@fmmu.edu.cn Tel: (029) 3375955

2 制剂煎液的制备

尽可能接近临床并兼顾实验条件。临床上煎煮方剂存在煎煮时间长短不一,加水量多少不一等情况,所以本实验将这些因素进行考虑,同时为了尽可能定量准确,采用量杯定量,以定容煎煮好的汤剂。并测定常用的几种川芎当归复方汤剂。

2.1 川芎单煎汤(临床型):取川芎 500 g,常水洗净 2 遍后,用沸水 3 L 浸泡 30 min,用不锈钢刀切成 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的煮散,放回不锈钢锅中煮沸 30 min,5 层纱布滤过,药渣用沸水覆过药面,再煮 30 min,合并药液,文火上浓缩成含川芎生药 0.2 g/mL 的药液。

2.2 川芎单煎汤(实验型):取川芎 20 g,12 倍沸水浸泡 30 min 后,取出切成 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的煮散,煮沸 15 min,再用 12 倍沸水煮沸 15 min,合并药液,文火上浓缩成含川芎生药 0.1 g/mL 的药液。

2.3 当归单煎汤(实验型 I):取当归 20 g,严格控制煎煮时间,方法同 2.2 项,得含当归生药 0.1 g/mL 的药液。

2.4 芎归合煎汤(实验型):取川芎、当归各 20 g,方法同 2.2 项,得含生药量 0.1 g/mL 的药液,其中含当归生药 0.05 g/mL。

2.5 血府逐瘀汤(实验型):按原方比例,药量取 1/3 (桃仁 4 g、红花 3 g、当归 3 g、生地黄 3 g、川芎 1.67 g、赤芍 2 g、牛膝 3 g、桔梗 1.67 g、柴胡 1 g、枳壳 2 g、甘草 1 g,共 25.4 g),12 倍沸水浸泡 30 min。取出川芎、当归和赤芍切碎,煎 15 min,共两次,合并药液,文火上浓缩成含生药量 0.1 g/mL 的药液,其中含当归生药 0.012 g/mL。

2.6 补阳还五汤(实验型):分别按原方比例取黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁各 40、2、2、1、1、1、1 g,总量为 48 g,12 倍沸水浸泡 30 min。取出川芎、当归和赤芍切碎,煎 15 min,共两次,合并药液,文火上浓缩成含生药量 0.24 g/mL 的药液,其中含当归生药 0.01 g/mL。

2.7 四物汤(实验型):以原方比例加 12 倍沸水浸泡 30 min,煎 15 min,共两次,余法同 2.6 项,最终得含生药量 0.084 g/mL 的药液,其中含川芎生药 0.04 g/mL。

2.8 当归单煎汤(实验型 II):取当归 20 g,6 倍沸水浸泡 30 min,切碎 0.5~1 cm,煎两次,共 15 min,严格控制煎煮时间。最后浓缩至含生药 0.2 g/mL。

3 阿魏酸的 HPLC 测定

3.1 色谱条件:Hypersil C₁₈ DDS 2 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)(大连依利特科学仪器有限公司);流动相:甲醇-醋酸-水(38:0.3:61.7);体积流量:1 mL/min;检测波长:322 nm。

3.2 供试品溶液的制备:精密量取煎剂 1 mL 分别置于 5 mL 塑料离心管中,12 000 r/min 离心 10 min。取上清液用 0.22 μm 混合纤维素脂微孔滤膜滤过,即得。

3.3 标准曲线的制备:精称阿魏酸对照品 5.11 mg 于 100 mL 棕色量瓶中,用流动相稀释至刻度。分别取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 置 10 mL 棕色量瓶中,用流动相稀释至刻度,取 20 μL 进样测定。以峰面积为纵坐标,阿魏酸进样量为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 4\,450.75 X + 2\,728.69$, $r = 0.999\,2$ 。表明阿魏酸在 0.511~4.088 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

3.4 精密度试验:取阿魏酸对照品溶液在 1 d 内进样 5 次,结果阿魏酸峰面积的 RSD=2.53%。

3.5 回收率试验:精密称取阿魏酸对照品适量,加到芎归合煎液中混匀,同时制备空白,同 3.2 项下方法操作,计算得平均回收率为 96.48%,RSD=3.61% ($n=5$)。

3.6 结果:HPLC 图见图 1,测定结果见表 1。

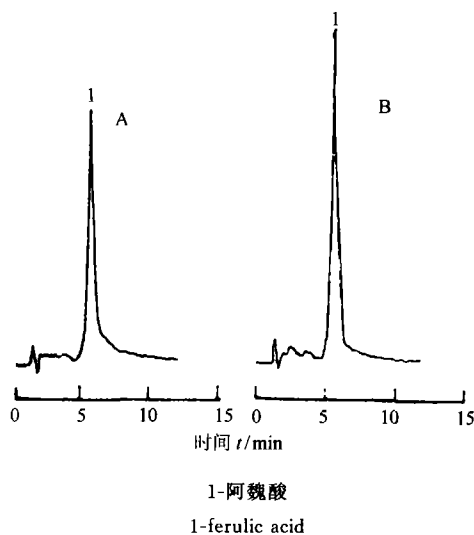


图1 阿魏酸对照品(A)和川芎单煎汤(B)的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC chromatograms of ferulic acid reference substance (A) and Chuanxiong Decoction (B)

4 讨论

4.1 本实验考虑了影响中药汤剂制备的几方面因素,如不同的煎煮时间,不同的水量,药物不同的配伍,大剂量的临床煎法与小剂量的实验室煎法。严格控制上述因素对制剂中指标成分的影响,以作为生

表 1 几种含川芎当归汤剂中阿魏酸含量的测定 ($n=3$)
Table 1 Ferulic acid in several preparations ($n=3$)

方 剂	阿魏酸/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
川芎单煎汤(临床型)	283.32
川芎单煎汤(实验型)	307.49
当归单煎汤(实验型 I)	374.59
芎归合煎汤(实验型)	562.25
血府逐瘀汤(实验型)	158.72
补阳还五汤(实验型)	214.59
四物汤(实验型)	575.88
当归单煎汤(实验型 II)	167.74

物方剂分析药效学和药动学研究以及临床治疗药物监测的参考。这比仅考虑药物的不同配伍全面、合理、科学。

4.2 严格控制多种实验条件,当归单煎汤加水量增多时,阿魏酸含量明显增加,表明在煎煮当归时最好改传统的 6 倍水为 10~12 倍水;川芎单煎汤实验室煮法中阿魏酸的量比临床煎煮法的明显增多。临床煎煮法主要是加水量过少,煎煮时间过长导致阿魏酸不能充分溶出或随水蒸气损失。本实验证明煎煮 15 min 比 30 min 更好,但不足的是未进行煎煮 5 min 与 15 min 的对比观察,有待于进一步研究。

4.3 四物汤中阿魏酸的量在各组中最高,且增加的地黄、赤芍并没有减少阿魏酸的量,而本实验室以往

研究结果表明当赤芍单独与川芎合煎时则使阿魏酸的含量降低。本结果为四物汤组方的科学性提供了直接的化学成分基础。

4.4 目前国内外对单味中药及其提取物的研究较多,而对复方的研究较少。黄熙教授提出生物方剂分析中医药学研究的设想^[2],即在方剂吸收入生物体内成分分析的指导下,进行方剂在体-离体药效学研究、方剂药动学实验、方剂质量控制标准、中药植物化学、中药制剂学和证本质方面的研究。本实验的研究结果为生物方剂分析药效学研究从物质角度提供间接依据,为生物方剂分析药动学研究提供比较、对照的标准。

References:

- [1] Huang X, Ren P. The difficulty and breakthrough of preventing the hypertension and coronary heart disease [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1997, 17(9): 515-518.
- [2] Huang X. The hypothesis, background, and significance of the study on the bioanalysis of TCM recipe [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2002, 22(4): 251-252.
- [3] Huang X, Ren P, Wang L L, et al. Effect of different decocting methods and compatible medicinal herbs on concentration of ferulic acid in decoctions [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(5): 411-413.

方波伏安法间接测定甘草和复方甘草片中甘草酸的含量

严金龙

(盐城工学院 化学工程系,江苏 盐城 224003)

甘草的活性成分为甘草酸,其定量测定方法报道较多^[1]。甘草酸与 Pb^{2+} 定量生成沉淀,方波伏安法测定沉淀后上清液中 Pb^{2+} 可间接确定甘草酸的含量,不用沉淀手工分离、洗涤或稀释。本实验研究了方波伏安法的测定条件和甘草及其制品处理方法,结果表明,方法简单快速、灵敏度高。

1 仪器与试剂

CHI832 电化学分析仪(上海辰华仪器公司),采用三电极系统,参比电极为 Ag/AgCl ,辅助电极为光亮铂片,工作电极为汞膜电极(自制)。SRD—1 微型磁力搅拌器(盐城工学院制)。pHS—2 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)。其余试剂皆为分析纯试剂,实验用水为二次蒸馏水。甘草细粉和复方甘草片由

盐城市中医院提供。

2 实验方法

2.1 铅标准溶液的制备:准确称取 0.207 2 g 高纯金属铅于 100 mL 烧杯中,用 10 mL HNO_3 加热溶解,加入 5 mL 浓 HCl 重复蒸干两次,置 100 mL 量瓶中,并加至刻度,即得。实验所用其他的铅标准溶液,用水稀释制备。

2.2 甘草酸对照品溶液的制备:准确称取 100 mg 甘草酸(纯度大于 99%,盐城市中医院提供)溶于 15 mL 无水乙醇中,移入 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度(1 mg/mL)。

2.3 测定:将一定量的甘草酸溶液与已知过量的硝酸铅溶液置于 10 mL 电解池中,加入 5% NH_4Ac 溶