

## RP-HPLC 法测定川芎中丁基苯酞

单进军<sup>1</sup>, 狄留庆<sup>1\*</sup>, 罗兴洪<sup>2</sup>, 陈浩<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学 新药及海洋药物研究中心, 江苏 南京 210029; 2. 江苏先声药物研究院, 江苏 南京 210042)

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum wallichii* Franch. 的干燥根茎, 具有活血行气、祛风止痛之功效。川芎中的苯酞类成分藁本内酯(ligustilide)、丁基苯酞(butylphthalide)、丁烯基苯酞(butylenephthalide)、新蛇床内酯(neocoinidilide)等是其主导香味成分, 并具有广泛的生理活性。日本也曾以苯酞类成分来评价川芎的质量<sup>[1]</sup>。虽然藁本内酯在川芎中的量较高, 但藁本内酯很不稳定, 易分解<sup>[2]</sup>, 这给质量检测带来了很大的麻烦。药理研究表明, 丁基苯酞具有明显的抗实验性脑缺血作用<sup>[3]</sup>, 且较藁本内酯稳定, 故本实验参考文献报道<sup>[4]</sup>, 采用 HPLC 法测定川芎药材中的丁基苯酞, 方法简便、准确、重现性好, 可作为川芎药材质量控制的方法。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱(安捷伦 1100 系列); JLS-350 超声波清洗器(上海安谱科学仪器有限公司)。

丁基苯酞对照品(中国医学科学院药物研究所提供, 经 HPLC 检测, 质量分数在 98% 以上); 川芎(四川省中药饮片有限责任公司, 产地为四川), 经南京中医药大学鉴定教研室吴德康教授鉴定。乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司), 甲醇(色谱纯), 其余试剂均为分析纯。

### 2 色谱条件

色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-醋酸水 (pH 4.0) (45 : 55); 检测波长: 228 nm, 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 40 °C。理论板数按丁基苯酞峰计算不低于 5 000。分离结果见图 1。

### 3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备: 精密称取丁基苯酞对照品 48.60 mg, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密量取上述溶液 1 mL, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

3.2 供试品溶液的制备: 称取川芎粉末(40 目)2

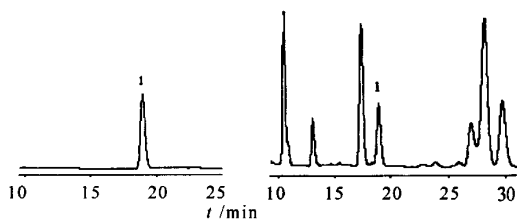


图 1 丁基苯酞对照品和川芎药材的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of butylphthalide reference substances and *Rhizoma Chuanxiong*

g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入乙醚 50 mL, 超声处理 20 min, 回收乙醚至干, 用甲醇充分溶解, 准确转移到 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 0.45 μm 滤膜滤过, 收取续滤液, 作为供试品溶液。

3.3 线性关系考察: 用甲醇分别将对照品溶液稀释成 311.04、155.52、77.76、38.88、9.72 μg/mL 的溶液, 液相色谱仪进样 10 μL 测定, 以质量浓度 X 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程:  $Y = 27.406 X + 42.965$ ,  $r = 0.9999$ , 表明丁基苯酞在 9.7~311.0 μg/mL 与峰面积呈良好线性关系。

3.4 精密度试验: 精密吸取对照品溶液(0.097 2 mg/mL) 10 μL, 连续进样 6 次, 记录丁基苯酞峰面积, 测定结果 RSD 为 1.14%。

3.5 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 24 h 内每隔一定时间共测定 5 次, 峰面积 RSD 为 1.25%, 表明供试品溶液在室温条件下 24 h 内稳定。

3.6 重现性试验: 取同批样品 5 份, 按样品测定项下依法平行操作, 测定每份样品中丁基苯酞的质量分数, RSD 为 1.47%。

3.7 加样回收率试验: 取已知丁基苯酞量的川芎药材粉约 1 g, 精密称定, 分别加入丁基苯酞对照品溶液(质量浓度 8 mg/mL) 1 mL 左右, 按 3.2 项下方法操作, 测定, 计算加样回收率, 结果平均回收率为 98.90%, RSD 为 1.81% (n=9)。

3.8 样品测定: 取 5 批川芎药材, 分别制成供试品溶液, 精密吸取对照品溶液 10 μL、供试品溶液 25

收稿日期: 2005-04-24

作者简介: 单进军, 男, (1979—), 江苏大丰人, 南京中医药大学 2003 级中药药剂学硕士研究生。

\* 通讯作者 狄留庆 Tel: (025)86798226 E-mail: diliuqing928@163.com

$\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件测定丁基苯酞的峰面积, 以外标法计算丁基苯酞结果见表 1。

表 1 川芎中丁基苯酞的量 ( $n=3$ )

Table 1 Content of butylphthalide in *Rhizoma chuanxiong* ( $n=3$ )

批号	丁基苯酞/%	批号	丁基苯酞/%
040903	0.786	041013	0.798
040913	0.801	041026	0.790
040921	0.793		

#### 4 讨论

4.1 实验建立了川芎药材中丁基苯酞的测定方法, 应用反相高效液相色谱法, 以适当比例的乙腈-醋酸水为流动相, 可使丁基苯酞与其他成分获得基线分离, 丁基苯酞的分离度  $>2$ , 理论塔板数  $>5000$ , 并具有微量、快速、准确、重现性好等特点, 可用于川芎中丁基苯酞的量测定。

4.2 本实验比较了乙醚回流提取和超声提取两种方法, 发现超声提取效率大大高于回流提取。可能是丁基苯酞具有一定的挥发性, 受热后损失了一部分。

4.3 样品提取方法的优选: 丁基苯酞为川芎挥发油中的成分, 脂溶性较强, 因此选用乙醚作为提取溶

剂, 对提取时间和提取次数进行了考察, 本实验采用  $L_9(3^4)$  正交表, 以提取后的丁基苯酞的峰面积和称重的比值 ( $S/W$ ) 作为考察指标, 进行了 9 次试验, 取药材粉末 (40 目) 2 g, 精密称定, 按表 2 操作, 考察提取条件。

表 2 因素水平表

Table 2 Factors and levels

试验号	A	B
	V/mL	t/min
1	50	20
2	75	30
3	100	40

#### References:

- [1] Hu B H. Translate. *The Analysis Technics of Chinese Preparation* (汉方制剂分析技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
- [2] Shi L F, Deng Y S, Wu B S. Studies on chemical constituents and the stability of the essential oil from dry rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1995, 15(3): 26.
- [3] Xu H L, Feng Y P. Effects of 3-butylphthalide on thrombosis formation and platelet function in rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2001, 36(5): 329-333.
- [4] Zhao C X, Cui S M, Liu X H, et al. Determination of the content and the related substances of 3-butylphthalide in liposomes by RP-HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2004, 24(1): 24-27.

## RP-HPLC 法测定麻黄中麻黄碱、伪麻黄碱和甲基麻黄碱

林 凯<sup>1</sup>, 范 琦<sup>1\*</sup>, 杨成钢<sup>2</sup>, 邓开英<sup>2</sup>

(1. 重庆医科大学 药理学系, 重庆 400016; 2. 重庆市药品检验所, 重庆 400015)

麻黄是常用中药, 性温、味辛、微苦, 具发汗解表、宣肺平喘、利尿消肿的功效。麻黄碱 (ephedrine, E)、伪麻黄碱 (pseudoephedrine, PE) 和甲基麻黄碱 (methylephedrine, ME) 为麻黄药材中 3 种有效成分。麻黄碱具有中枢神经和交感神经兴奋作用, 其发汗平喘、利胆、升血压、收缩血管等作用都比较强; 伪麻黄碱具有很强的抗炎和利尿作用, 对鼻黏膜肿胀引起的鼻塞症方面疗效确定; 甲基麻黄碱对气管平滑肌的扩张作用及镇咳作用与麻黄碱相当, 而且具有良好的抗变态反应作用<sup>[1]</sup>。《中国药典》2005 年版一部收录的麻黄测定项中仅控制了麻黄碱<sup>[2]</sup>。笔者经试验研究, 建立了分离效果好、重现性好的 HPLC 法同时测定麻黄药材中麻黄碱、伪麻黄碱和甲基麻

黄碱, 方法简便快速, 可用于药材质量的控制。

#### 1 仪器、试剂与试剂

1.1 仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 二极管阵列检测器 (DAD, 美国 Agilent 公司), KQ3200 超声波清洗器 (昆山仪器有限公司)。

1.2 试剂与试剂: 盐酸麻黄碱 (ephedrine hydrochloride) 对照品、盐酸伪麻黄碱 (pseudoephedrine hydrochloride) 对照品、盐酸甲基麻黄碱 (methylephedrine hydrochloride) 对照品均购自中国药品生物制品检定所; 麻黄药材经青海省药品检验所刘海青副主任中药师鉴定, 均为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎, 乙腈为色

收稿日期: 2005-04-08

作者简介: 林 凯 (1978—), 男, 海南省海口市人, 重庆医科大学药理学系药物分析专业硕士研究生, 主要从事中药分析。

E-mail: linlion30355735@163.com

\* 通讯作者 范 琦 Tel: (023) 68485048 E-mail: fanqi787@hotmail.com