

芎嗪与阿魏酸峰型良好,且分离度大于 1.5。

为了更好的反应活血胶囊的化学信息,本实验对供试品的制备方法进行考察。选取甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、水进行提取,结果 50% 甲醇所得样品信息量最多,峰面积较大;同时还考察了 20、30、50 min 不同提取时间对样品的影响,结果 30 min 即可提取完全。

参考文献:

- [1] 魏安伟. 活血胶囊治疗稳定型心绞痛疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(25): 3063.
- [2] 陈玉英, 张唐颂, 陈马养. 活血胶囊治疗高脂血症 52 例临床观察[J]. 中医药临床杂志, 2005, 17(5): 456-457.
- [3] 魏安伟. 活血胶囊对稳定性心绞痛患者血清 C 反应蛋白的影响[J]. 临床合理用药, 2009, 2(17): 58-59.
- [4] 齐俊民. 活血胶囊治疗儿童过敏性紫癜临床观察[J]. 内蒙古中医药, 2008, (22): 6-7.
- [5] 孔 铭, 朱玲英, 王佩娟, 等. HPLC 测定补肾活血颗粒中芍药苷、阿魏酸、淫羊藿苷的含量[J]. 中成药, 2010, 32(4):

600-603.

- [6] 杨燕飞. RP-HPLC 同时测定坤泰胶囊中芍药苷、黄芩苷、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱含量[J]. 中成药, 2010, 32(6): 958-960.
- [7] 高 颖, 高文远, 董 玄. HPLC-ELSD 法测定血府逐瘀胶囊中苦杏仁苷、芍药苷和柚皮苷[J]. 中草药, 2009, 40(11): 1756-1758.
- [8] 邱 颖, 李雪梅, 赵怀清. RP-HPLC 同时测定十味活血丸中苦杏仁苷和羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(19): 1507-1510.
- [9] 康博欣, 马丽丽, 门金玉, 等. 反相高效液相色谱法同时测定心宁片中盐酸川芎嗪和羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(12): 2015-2017.
- [10] 郭道利, 陈 华. HPLC 法测定异位康合剂中盐酸川芎嗪的含量[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(28): 3487-3488.
- [11] 陈恒冲, 马彬峡, 吴春高, 等. RP-HPLC 同时测定乐脉颗粒中阿魏酸和丹酚酸 B 含量[J]. 中成药, 2009, 31(4): 554-557.
- [12] 薛改进, 赵云丽, 郝 杰, 等. HPLC 法同时测定抗敏颗粒中芍药苷、毛蕊异黄酮苷和阿魏酸的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(23): 2168-2170.

HPLC 法同时测定养血化瘀合剂中阿魏酸、甘草苷和甘草酸

张 翔¹, 韩继永²

(1. 南京市药品检验所, 江苏 南京 210015; 2. 江苏奥赛康药业有限公司, 江苏 南京 211112)

摘要:目的 建立 HPLC 同时测定养血化瘀合剂(当归、川芎、甘草等)中阿魏酸、甘草苷和甘草酸的方法。方法 采用依利特 Hypersil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈为流动相 A, 0.1% 磷酸水溶液为流动相 B, 进行线性梯度洗脱 (0 ~ 30 min, 85% B → 50% B), 体积流量为 1 mL/min, 检测波长为 245 nm, 柱温为 25 ℃。结果 阿魏酸在 14.84 ~ 148.36 μg/mL ($r=0.9998$), 甘草苷在 3.852 ~ 38.52 μg/mL ($r=0.9996$) 和甘草酸在 7.55 ~ 75.50 μg/mL ($r=0.9997$) 的范围内浓度与峰面积呈良好的线性关系, 阿魏酸、甘草苷和甘草酸的进样精密度分别为 0.96%、1.02% 和 0.93% ($n=5$), 测定重复性分别为 1.28%、1.32% 和 1.26% ($n=6$), 加样回收率分别为 100.1%、100.1% 和 99.7% ($n=9$), 溶液在 12 h 内稳定。结论 本法操作简单、快速、重复性好, 结果准确可靠, 可用于养血化瘀合剂的质量控制。

关键词: 养血化瘀合剂; HPLC; 阿魏酸; 甘草苷; 甘草酸

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-4528(2011)04-0622-04

Simultaneous determination of ferulic acid, liquiritin, and glycyrrhizic acid in Yangxue Huayu Mixture by HPLC

ZHANG Xiang¹, HAN Ji-yong²

(1. Nanjing Institute for Drug Control, Nanjing 210015, China; 2. Jiangsu Aosei Kang Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 211112, China)

ABSTRACT: AIM To establish a method for simultaneously determining ferulic acid, liquiritin, and glycyrrhizic acid in Yangxue Huayu Mixture (*Angelicae Sinensis Radix*, *Chuanxiong Rhizoma*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*,

收稿日期: 2010-09-02

作者简介: 张 翔 (1978 -), 男, 主管药师, 研究方向: 化学及中成药制剂分析。Tel: (025) 85036219, E-mail: shrek1@163.com

etc.)。 **METHODS** The column was Elite Hypersil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm 5 μm). The mobile phase was gradient elution (0–30 min 85% B → 50% B), acetonitrile as mobile phase A, 0.1% phosphoric acid as mobile phase B. The flow rate was 1 mL/min. The detection wavelength was set at 245 nm. The temperature of column was 25 °C. **RESULTS** The linearity of ferulic acid was in the range of 14.84–148.36 μg/mL ($r=0.999\ 8$); that of liquiritin was in the range of 3.852–38.52 μg/mL ($r=0.999\ 6$); that of glycyrrhizic acid was in the range of 7.55–75.50 μg/mL ($r=0.999\ 7$). Their RSDs of precision were 0.96%, 1.02% and 0.93%, respectively. The reproducibilities were 1.28%, 1.32% and 1.26%, respectively. The average recoveries were 100.1%, 100.1% and 99.7% ($n=9$), respectively. The sample solution was stable within 12 h. **CONCLUSION** The method is simple, reliable and reproducible. It can be used to control the quality of Yangxue Huayu Mixture. **KEY WORDS**: Yangxuehuayu Mixture; HPLC; ferulic acid; liquiritin; glycyrrhizic acid

养血化瘀合剂出自《傅青主女科》,由当归、川芎、甘草等多味中药制成的复方制剂,多用于妇科产后恶露不净,具有养血活血,温经止痛的临床功用。但因其现行质量标准^[1]过于简单,无法全面评价制剂的内在真实质量。本实验以制剂中主要活性成分当归、川芎中的阿魏酸与甘草中的甘草苷、甘草酸为检测对象,参照相关文献[2~5]建立了同时测定这3种成分的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪 1200 型(美国 Agilent 公司),包括 G1312 二元泵, G1315D 二极管阵列检测器, G1316A 柱温箱, G1367B 自动进样器, G1322A 在线脱气机, ChemStation for LC 3D systems 工作站 (Rev. B. 04. 01); KQ-250B 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯仪器有限公司); YZ-B 型真空恒温干燥箱(天津药典标准仪器厂)。

1.2 试剂 阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 110773-200611,供含量测定用);甘草苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 111610-200604,供含量测定用);甘草酸单铵盐对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 110731-200615,供含量测定用);养血化瘀合剂(南京市妇幼保健院提供,批号: 20100413, 20100414, 20100420);乙腈(色谱纯, J&K Chemical Ltd, USA); EPED-20DC 超纯水仪(南京易普益达科技发展有限公司);磷酸, 甲醇(分析纯, 南京化学试剂厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 依利特 Hypersil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm 5 μm); 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 0.1% 磷酸水溶液, 线性梯度洗脱 (0~30 min 85% B → 50% B); 检测波长: 245 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C。进样体积: 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备 取经五氧化二磷减压干燥 12 h 后的阿魏酸、甘草苷及甘草酸单铵盐对照品适量, 精密称定, 用 50% 甲醇制成每 1 mL 中分别含 55 μg、15 μg 和 27 μg 的混合溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 精密量取供试品 3 mL 置 50 mL 棕色量瓶中, 用 50% 甲醇定容, 摇匀。静置 30 min, 离心 (2 500 r/min, 15 min)。取上清液用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性溶液的配制 按处方比例称取除当归、川芎及甘草以外的其余药味, 按制备工艺制成阿魏酸、甘草苷和甘草酸的阴性样品溶液; 再按 2.3 项下方法制备阿魏酸、甘草苷和甘草酸的阴性溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 系统适用性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。甘草苷、阿魏酸及甘草酸的保留时间分别约为 8.7、10.0、24.6 min, 与相邻色谱峰的分度度均大于 1.5, 峰对称性良好, 理论板数为 13 583, 13 074 和 103 230; 阴性溶液对供试品的定量测定无干扰。结果见图 1。

2.5.2 线性关系考察 取阿魏酸、甘草苷及甘草酸铵对照品适量, 精密称定, 用 50% 甲醇分别制成每 1 mL 中各含 0.75 mg、0.20 mg 及 0.37 mg 的对照品贮备液; 分别精密量取 3 种贮备溶液各 0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 mL 同置 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得对照品系列混合溶液; 分别精密吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积为纵坐标 (Y), 浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 阿魏酸、甘草苷和甘草酸的回归方程及线性范围分别为 $Y=26.308X+2.490\ 2$ (14.84~148.36 μg/mL, $r=0.999\ 8$); $Y=45.429X+1.134$ (3.852~38.52 μg/mL, $r=0.999\ 6$); $Y=23.355X+4.484\ 6$ (7.55~75.50 μg/mL, $r=0.999\ 7$)。

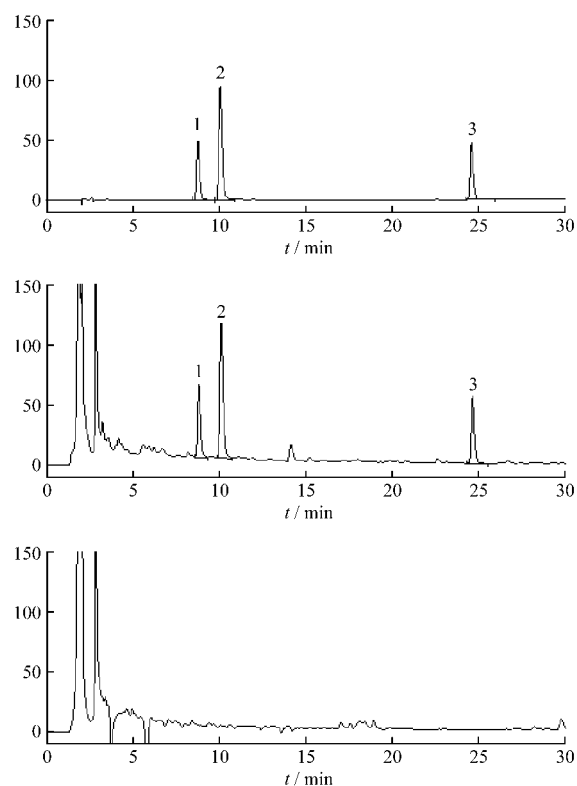


图 1 对照品、样品和阴性样品 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of control solution , sample solution and blank sample solution

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性溶液 1. 甘草苷
2. 阿魏酸 3. 甘草酸
A. control solution B. sample solution C. blank sample solution
1. liquiritin 2. ferulic acid 3. glycyrrhizic acid

2.5.3 精密度试验 精密量取混合对照品溶液 20 μL ,重复进样 5 次 ,以峰面积计算 ,阿魏酸的 RSD 为 0.96% ,甘草苷的 RSD 为 1.02% ,甘草酸的 RSD 为 0.93% 。

2.5.4 重复性试验 精密量取同一批养血化瘀合剂 (批号:20100414) 3 mL ,平行 6 份 ,按 2.3 项下方法制成供试品溶液 ,依法测定 ,结果阿魏酸质量浓度为 1.136 mg/mL ,RSD 为 1.28% ($n=6$) ,甘草苷质量浓度为 0.228 mg/mL ,RSD 为 1.32% ($n=6$) ,甘草酸质量浓度为 0.517 mg/mL ,RSD 为 1.26% ($n=6$) 。

2.5.5 溶液稳定性试验 取供试品溶液 ,分别在 0、2、4、8、12 h ,依法测定 ,结果表明 ,在 12 h 内阿魏酸 ,甘草苷及甘草酸的峰面积均无明显变化 ,RSD 分别为 0.98%、1.06% 和 0.95% ($n=5$) 。

2.5.6 加样回收率试验 精密量取已知量的同一批样品 (批号:20100414) 1.5 mL ,共 9 份 ,置 50 mL 量瓶中 ,平均分为 3 组 ,分别精密加入相当于样品中

所含阿魏酸、甘草苷及甘草酸量的 80%、100%、120% 的对照品混合溶液 ,按 2.3 项下方法制备样品溶液 ,依法测定 ,计算加样回收率。另精密配制混合对照品溶液 ,同法测定 ,按外标法计算 3 种成分的量 ,结果见表 1~3。

表 1 阿魏酸加样回收率结果

Tab. 1 Recovery test results of ferulic acid					
原有量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1.704	1.369	3.072	99.92		
1.704	1.369	3.061	99.14		
1.704	1.369	3.069	99.75		
1.704	1.711	3.429	100.8		
1.704	1.711	3.436	101.2	100.1	1.16
1.704	1.711	3.448	101.9		
1.704	2.053	3.772	100.7		
1.704	2.053	3.749	99.62		
1.704	2.053	3.719	98.15		

表 2 甘草苷加样回收率结果

Tab. 2 Recovery test results of liquiritin					
原有量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
0.337 5	0.268 2	0.609 7	101.5		
0.337 5	0.268 2	0.605 9	100.1		
0.337 5	0.268 2	0.607 1	100.5		
0.337 5	0.335 2	0.675 2	100.8		
0.337 5	0.335 2	0.675 6	100.9	100.1	0.92
0.337 5	0.335 2	0.670 2	99.25		
0.337 5	0.402 2	0.738 9	99.80		
0.337 5	0.402 2	0.736 2	99.13		
0.337 5	0.402 2	0.7345	98.71		

表 3 甘草酸加样回收率结果

Tab. 3 Recovery test results of glycyrrhizic acid					
原有量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
0.775 5	0.615 8	1.395 8	100.7		
0.775 5	0.615 8	1.389 1	99.64		
0.775 5	0.615 8	1.390 3	99.84		
0.775 5	0.769 8	1.551 3	100.8		
0.775 5	0.769 8	1.544 8	99.94	99.7	1.12
0.775 5	0.769 8	1.553 5	101.1		
0.775 5	0.923 8	1.683 4	98.28		
0.775 5	0.923 8	1.687 0	98.67		
0.775 5	0.923 8	1.681 1	98.03		

2.5.7 样品测定 按 2.2 和 2.3 项下方法分别制备对照品溶液和供试品溶液 ,依次对 3 批次样品 (批号:20100413 20100414 20100420) 进行测定 ,结果见表 4。

表 4 养血化瘀合剂中阿魏酸、甘草苷和甘草酸
测定结果 ($n=3$)

Tab. 4 Test results of samples ($n=3$)

批号	阿魏酸 /(mg/mL)	RSD /%	甘草苷 /(mg/mL)	RSD /%	甘草酸 /(mg/mL)	RSD /%
20100413	1.118	1.05	0.225	1.15	0.525	0.85
20100414	1.136	0.95	0.228	1.08	0.517	0.93
20100420	1.140	0.98	0.231	1.13	0.532	0.88

3 讨论

3.1 检测波长的选择 以二极管阵列检测器对阿魏酸、甘草苷及甘草酸进行全波长扫描,结合 3D 图谱,兼顾三者在此波长处均有比较大的紫外吸收,选取 245 nm 为检测波长。

3.2 流动相及洗脱方式的选择 参阅相关文献[6~11],分别使用了甲醇-0.1%冰醋酸溶液、甲醇-0.2 mol/L 乙酸铵溶液-冰醋酸和乙腈-0.1%磷酸水溶液等不同类型、比例的流动相进行研究,实验结果表明在本法的流动相条件下色谱峰形佳,分离度好,保留时间适中。且本法采用梯度洗脱可使待测组分与相邻杂质的分离度达到理想的分离效果。

3.3 供试品溶液配制过程中发现,加入溶剂后,溶液出现部分絮状沉淀,可能是甲醇使制剂中的大分子物质析出。从保护色谱柱、进样器的角度出发,建议在定容后静置半小时使充分沉淀后,再进行离心、滤过。

3.4 文献中报导阿魏酸不稳定,易分解,宜采用棕色量瓶避光保存。因无甘草酸的精制对照品,所以采用甘草酸单铵盐对照品替代,并在计算时乘以系数 0.979 5,即得。

3.5 为测定本品中川芎嗪,我们参照相关文献,用 C_{18} 柱,以甲醇-0.1%冰醋酸(25:75)为流动相,体

积流量:1 mL/min,检测波长:280 nm,柱温:30 ℃。对制剂中的川芎嗪进行测定,结果发现在供试品溶液的色谱图中未检出川芎嗪的色谱峰。由于川芎嗪具有易升华的特性,而该制剂在制备过程中,需要两次长时间的煎煮操作,推测川芎嗪在煎煮过程中被破坏殆尽,导致最终无法检测出该成分的存在。

参考文献:

- [1] 江苏省食品药品监督管理局. 江苏省食品药品监督管理局医院制剂备案标准[S]. 1999.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2010:124.
- [3] 王克祥,范秋霞,奚万有. HPLC 测定新生化冲剂中阿魏酸的含量[J]. 中成药 2003 25(10):855-856.
- [4] 常子军,张莉,黄熙. 健康人服用黄芪当归合剂后体内阿魏酸的 HPLC 法测定[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版 2002 18(2):100-102.
- [5] 段天璇,于密密,刘春生,等. HPLC 法同时测定甘草指纹图谱暨甘草苷、甘草酸含量[J]. 中成药 2006 28(2):161-165.
- [6] 卞凌. HPLC 法测定养血化瘀合剂中阿魏酸的含量[J]. 黑龙江中医药 2009 (5):49-50.
- [7] 宋金春,王杨杨,杨鹤,等. 高效液相色谱法同时测定古方生化汤中阿魏酸和川芎嗪的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004 24(7):419-420.
- [8] 覃军,邱孟. 高效液相色谱法测定生化产妇康胶囊中阿魏酸[J]. 中华实用中西医杂志 2005 18(22):1666-1667.
- [9] 鲁健武,曾俊芬,宋金春. HPLC 法同时测定复方川芎胶囊中阿魏酸和川芎嗪的含量[J]. 中国药师 2008 11(7):814-816.
- [10] 陆汝艳,陈寅. 反相高效液相色谱法测定川芎嗪片中川芎嗪的含量[J]. 浙江中医杂志 2009 44(10):761-762.
- [11] 廖薇,靳凤云,梁光义,等. HPLC 法测定华盖散不同煎剂中甘草苷和甘草酸的含量[J]. 贵阳医学院学报 2008 30(1):20-23.

HPLC 法测定玄麦甘桔颗粒中甘草酸和哈巴俄苷

包小红, 周娟, 伍丕娥

(四川省食品药品检验所,四川 成都 610097)

摘要:目的 建立玄麦甘桔颗粒(玄参、麦冬、桔梗、甘草)中甘草酸和哈巴俄苷的测定方法。方法 采用 HPLC 法测定玄麦甘桔颗粒中甘草酸和哈巴俄苷。色谱柱: C_{18} 柱,流动相:乙腈-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(30:70:1)(甘草酸)、甲醇-1%醋酸水溶液(50:50)(哈巴俄苷);检测波长为 252 nm(甘草酸)、278 nm(哈巴俄苷)。结果 甘草酸在 0.021~4.298 μ g 的范围内,线性关系良好($r=0.9998$)。平均回收率为 102.8%,RSD 为 0.90%。哈巴俄苷在 0.025~0.841 μ g

收稿日期:2010-06-21

作者简介:包小红(1977-),女,主管药师,从事中药质量检验和质量标准研究工作。Tel:13668185432,E-mail:baoxiaohong114@tom.com