

表 4 白芍总苷对苯酚胶浆模型的治疗作用评分(n= 10)

Tab 4 Score of therapeutic effect of TGP on the model of phenol slurry induced swelling(n= 10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	粘连与扩张				腔壁结构病变				上皮细胞变性坏死				炎症细胞浸润				内膜充血水肿				总分			
		0分	1分	2分	3分	0分	1分	2分	3分	0分	1分	2分	3分	0分	1分	2分	3分	0分	1分	2分	3分	0~3分	4~7分	8~11分	12~15分
模型组	-	2	2	4	1	4	4	1	1	3	4	3	0	2	5	2	1	7	1	2	0	2	4	2	2
白芍总苷	0.1	5	3	1	1a	7	2	1	0	5	4	1	0	2	7	1	0	8	2	0	0	4	5	1	0a
白芍总苷	0.05	4	4	1	1	7	1	2	0	6	2	2	0	1	6	3	0	6	2	2	0	2	4	3	1
白芍总苷	0.025	5	2	2	1	5	2	2	1	5	2	1	2	3	6	1	0	4	4	2	0	4	3	2	1
千金片	1.44	6	1	2	1a	6	2	1	1	6	3	1	0a	2	6	2	0	5	4	1	0	5	4	1	1b
假手术	-	8	2	0	0b	10	0	0	0b	10	0	0	0b	2	8	0	0	8	2	0	0	10	0	0	0b

注:与模型对照组相比, aP<0.05, bP<0.01

× 20 d, 可不同程度地改善模型大鼠的各项病理反应指标, 如子宫粘连和扩张。说明白芍总苷对慢性盆腔炎大鼠的病理变化有改善作用。

慢性盆腔炎的主要炎症反应变化, 包括血管通透性增加, 炎症细胞渗出、水肿、致炎因子水平提高等反应, 还往往伴有疼痛的反应。为综合评价药物对慢性盆腔炎的作用, 通过小鼠热板法研究了白芍总苷的镇痛作用, 结果显示白芍总苷使用 200, 100, 50 mg·kg⁻¹ 剂量有不同程度的镇痛作用, 因此对临床上缓解慢性盆腔炎炎症疼痛具有一定的治疗价值。小鼠腹膜炎模型是使用炎性物质刺激后, 腹腔内毛细血管通透性增加, 血管内的白细胞和蛋白质成分向组织内渗出, 组胺、缓激肽增加血管通透性的物质增多, 白芍总苷使用 200 mg·kg⁻¹ 剂量, 可显著降低腹腔白细胞数目, 故对缓解血管通透性有利, 具有非常显著的镇痛作用, 对炎症早期的渗出性炎症反应也有很好的抑制作用。

参考文献:

[1] 顾莹, 季晖, 张云, 等. 厚参痔膏抗炎及其机制[J]. 中国天然

药物, 2007, 5(3): 221-224.
 [2] 王莉, 于俊荣, 樊瑞琴, 等. 甘草酸单铵配伍复方丹参注射液预防大鼠子宫角粘连及其对大鼠免疫功能调节作用的研究[J]. 中国中医药科技, 2005, 12(5): 289-291.
 [3] 陈颖异, 何晓文, 肖振宇. 舒康汤对慢性盆腔炎大鼠中性粒细胞 CD18 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 6(10): 26.
 [4] 贾丽娜, 赵世萍, 付守延, 等. 妇科千金软胶囊治疗盆腔炎药理学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(1): 18-20.
 [5] 王琛, 王泰岭, 李平, 等. 妇科千金软胶囊对盆腔炎大鼠子宫内组织病理学改变的观察[J]. 中日友好医院学报, 2005, 19(3): 158-160.
 [6] 王静, 杨军, 刘超, 等. 盆腔炎颗粒对大鼠慢性子宫内膜炎疗效的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(1): 56-58.
 [7] 金志春, 谭官屏. 盆腔舒胶囊治疗慢性盆腔炎的药理学研究[J]. 上海中医药大学学报, 2002, 16(1): 56-58.
 [8] 刘国生, 王桐生, 龙子江, 等. 盆腔炎冲剂对大鼠慢性盆腔炎模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(3): 24.
 [9] 向海燕, 侯连兵, 黄嗣航, 等. 金刚藤分散片对大鼠慢性盆腔炎的药理学研究[J]. 中药材, 2007, 30(4): 449-452.
 [10] 卫昊, 郭洁, 侯建平, 等. 坤复康胶囊对盆腔炎模型大鼠病理形态学的影响[J]. 陕西中医学院学报, 2007, 30(2): 46-48.
 [11] 刘明芝. 中医药统计学与软件应用[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 139-154.

[收稿日期] 2010-07-20

高效液相色谱法同时测定四物合剂中 4 种活性成分的含量

翟学佳, 舒舟, 陈东生, 吕永宁 (华中科技大学同济医学院附属协和医院药剂科, 湖北 武汉 430022)

[摘要] 目的: 建立同时测定四物合剂中芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸 4 种有效成分含量的高效液相色谱方法。方法: 采用 Symmetry C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.9 mm, 5.0 μm); 流动相为 0.05% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 线性梯度洗脱(0~5 min, 10% B; 5~10 min, 10% B→20% B; 10~45 min, 20% B→45% B), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 35 °C; 检测波长分别为 230 nm(芍药苷), 260 nm(腺苷), 282 nm(川芎嗪), 323 nm(阿魏酸)。结果: 芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸的质量浓度分别在 9.50~190, 5.70~114, 3.02~603, 8.00~160 mg·L⁻¹ 范围内呈良好线性关系(R² ≥ 0.992); 日内、日间精密度高, RSD 均小于 1.95% (n=6); 各组分低、中、高浓度的平均加样回收率均在 98.5%~101.2% 之间, RSD 均小于 1.85% (n=6); 四物合剂中芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸的质量浓度分别为(175.8.0±2.1), (187.4±1.4), (78.7±0.5), (90.9±1.0) mg·L⁻¹。结论: 本方法简便可靠, 重复性好, 可全面反映四物合剂中各味药的质量, 适用于四物合剂质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 四物合剂; 芍药苷; 腺苷; 川芎嗪; 阿魏酸

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2011)04-0286-04

[作者简介] 翟学佳, 女, 硕士, 主管药师, 电话: 027-85726073, E-mail: zhaixuejia@gmail.com [通讯作者] 吕永宁, 男, 硕士, 副主任药师, 电话: 027-85726073, E-mail: lvyongning67@hotmail.com

HPLC simultaneous determination of paeoniflorin, adenosine, tetramethylpyrazine and ferulic acid in Siwu mixture

ZHAI Xue-jia, SHU Zhou, CHEN Dong-sheng, LU Yong-ning (Department of Pharmacy, Union Hospital, Hubei University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430022, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC method for simultaneous determination of paeoniflorin, adenosine, tetramethylpyrazine, and ferulic acid in Siwu mixture. **METHODS** A Symmetry C₁₈ column (150 mm × 3.9 mm, 5.0 μm) was used. The mobile phase consisted of 0.05% aqueous formic acid (A) and acetonitrile (B) with linear gradient elution (0–5 min, 10% B; 5–10 min, 10%–20% B; 10–45 min, 20%–45% B). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. DAD detection was used and the detection wavelength was set at 230 nm for paeoniflorin, 260 nm for adenosine, 282 nm for tetramethylpyrazine and 323 nm for ferulic acid, respectively. The temperature of column was 35 °C. **RESULTS** Paeoniflorin, adenosine, tetramethylpyrazine, and ferulic acid showed good linearity ($R^2 \geq 0.992$) in the range of 9.50–190, 5.70–114, 3.02–603 and 8.00–160 μg·mL⁻¹, respectively. The average recovery rates of the four investigated compounds at low, medium and high concentration levels were in the range of 98.5%–101.2% for all with RSDs below 1.85% ($n=6$). The RSDs of intraday and interday precisions were not more than 1.95% ($n=6$). The contents of paeoniflorin, adenosine, tetramethylpyrazine, and ferulic acid in Siwu mixture were (1 758.0 ± 2.1), (187.4 ± 1.4), (78.7 ± 0.5), (90.9 ± 1.0) mg·L⁻¹, respectively. **CONCLUSION** The developed method is simple, accurate, reliable and can be used to control the quality of Siwu mixture.

KEY WORDS: HPLC; Siwu mixture; paeoniflorin; adenosine; tetramethylpyrazine; ferulic acid

四物合剂是中国药典 2005 年版一部收载的品种^[1], 由当归、白芍、川芎、熟地黄 4 味中药经现代制剂工艺加工而成, 具有养血调经之功效, 临床上用于血虚所致的面色萎黄、头晕眼花、心悸气短及月经不调的治疗, 效果显著。其中川芎嗪为川芎的活性成分之一, 具有保护心脑血管, 防止肝、肺纤维化, 阿魏酸是川芎和当归共同含有的活性成分, 具抗血小板凝集和血栓的作用^[2-3]; 芍药苷为白芍的主要活性成分, 用于扩张冠状动脉, 增加冠脉流量, 对抗急性心肌缺血, 降低血压^[4]; 腺苷是方中熟地黄中的成分, 滋阴补血, 益精填髓^[5]。以上 4 种成分均为四物合剂的有效成分, 而目前中国药典仅对四物合剂中芍药苷进行定量测定, 其他文献报道的四物合剂含量测定方法亦仅对其中部分药材单一成分进行测定^[3-4, 6], 同时测定四物合剂 4 味中药中各主要有效成分的方法目前尚未见报道。本实验建立了同时测定四物合剂中川芎嗪、阿魏酸、芍药苷、腺苷含量的方法, 为更全面控制四物合剂质量提供了依据。

1 材料

Shimadzu LC-20A 高效液相色谱仪, 包括在线脱气机(DGU-20A3)、二元梯度泵(LC-20A)、自动进样器(SIL-20A)、DAD 检测器(SPD-M20A)和 LC solution 色谱工作站; 芍药苷对照品(批号 110736-200527)、腺苷对照品(批号 110879-200202)、盐酸川芎嗪对照品(批号 110817-200104)和阿魏酸对照品(批号 0773-9910)购自中国药品生

物制品检定所; 四物合剂样品购自四川新斯顿制药有限公司(批号 090510, 090520, 090610, 090620, 090710, 090720, 每支 10 mL); 甲醇为色谱纯, 水为注射用水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Symmetry C₁₈(150 mm × 3.9 mm, 5.0 μm); 流动相: 0.05% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 线性梯度洗脱[0~5 min, B 相 10%; 5~10 min, B 相 10% → 20%; 10~45 min, B 相 20% → 45%]; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 芍药苷的检测波长为 230 nm, 腺苷的检测波长为 260 nm, 川芎嗪的检测波长为 282 nm, 阿魏酸的检测波长为 323 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 系列浓度混合对照品 分别精密称取对照品芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸适量, 以甲醇溶解并能定容, 制成质量浓度分别为芍药苷 1.90 g·L⁻¹, 腺苷 1.14 g·L⁻¹, 川芎嗪 6.03 g·L⁻¹ 和阿魏酸 1.60 g·L⁻¹ 的对照品储备液, 分别精密量取一系列体积的各对照品储备液适量, 以甲醇稀释, 制成 7 个浓度的混合对照品溶液, 避光保存。

2.2.2 供试品溶液 精密量取四物合剂 1.0 mL 于 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 避光保存, 临用前 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液 取按四物合剂工艺方法制

备的缺当归、缺白芍、缺川芎和缺熟地黄四物合剂适量, 分别按“2.2.2”项下方法操作, 即得。

2.3 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 20 μL, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 结果见图 1, 在芍药苷、腺苷、川芎嗪、阿魏酸相对应的位置上未见色谱峰, 四物合剂中其他组分不干扰该 4 种组分的测定, 方法专属性良好。

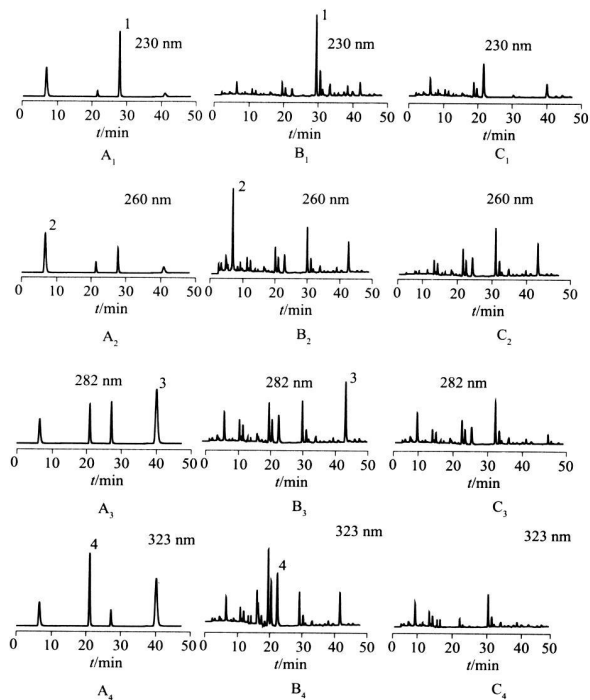


图 1 高效液相色谱图

A₁, A₂, A₃, A₄ 对照品; B₁, B₂, B₃, B₄ 四物合剂样品; C₁ 缺白芍阴性样品; C₂ 缺熟地黄阴性样品; C₃ 缺川芎阴性对照品; C₄ 缺当归、川芎阴性对照品; 1- 芍药苷; 2- 腺苷; 3- 川芎嗪; 4- 阿魏酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A₁, A₂, A₃, A₄ chemical reference substances; B₁, B₂, B₃, B₄ SIWU mixture samples; C₁ negative sample without *Raidix Paenoniae Alba*; C₂ negative sample without *Radix Rehmanniae preparata*; C₃ negative sample without *Rhizoma Chuanxiong*; C₄ negative sample without *Radix Angelicae Sinensis* and *Rhizoma Chuanxiong*; 1 paeoniflorin, 2 adenosine, 3 tetramethylpyrazine, 4 ferulic acid

2.4 线性与范围 在“2.1”项色谱条件下, 分别精密量取系列浓度的混合对照品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积为纵坐标(Y), 对照品质量浓度(X, mg·L⁻¹)为横坐标, 进行线性回归, 芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸线性回归方程及相关系数见表 1。结果表明: 各组分线性关系良好。

2.5 精密度试验

2.5.1 仪器精密度 取混合对照品溶液, 在“2.1”项色谱条件下, 连续进样 6 次, 分别计算各组分峰面积的 RSD, 结果为: 芍药苷 1.6%, 腺苷 1.8%, 川芎嗪 0.98%, 阿魏酸 1.4%。

表 1 4 种组分标准曲线及相关系数

Tab 1 Calibration curves and their correlation coefficients of four components

组分	标准曲线	R ²	线性范围 /mg·L ⁻¹	LOD /mg·L ⁻¹	LOQ /mg·L ⁻¹
芍药苷	Y= 6.68X+ 5.96	0.999 4	9.50~ 190	9.50	4.75
腺苷	Y= 78.6X+ 3.26	0.999 9	5.70~ 114	5.70	2.85
川芎嗪	Y= 51.3X+ 13.1	0.999 2	3.02~ 603	3.02	1.51
阿魏酸	Y= 61.8X+ 3.25	0.999 8	8.00~ 160	8.00	4.00

2.5.2 日间精密度 取批号为 090510 的四物合剂, 按“2.2.2”项下方法连续 6 d 制备供试品溶液并进样分析, 计算芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸平均含量(n= 6)分别为 1 761, 186.9, 78.12, 91.09 mg·L⁻¹; RSD 分别为 0.98%, 0.94%, 1.95%, 1.75%。

2.6 重复性和稳定性 取批号为 090510 的四物合剂, 按“2.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 进样分析, 计算芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸平均含量(n= 6)分别为 1 760, 187.1, 78.65, 91.33 mg·L⁻¹; RSD 分别为 0.59%, 0.78%, 1.56%, 1.21%, 表明重复性良好。

精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 h 注入液相色谱仪, 测定各组分含量。结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定, 各组分峰面积的 RSD 均小于 2.0%。

2.7 加样回收率 精密吸取批号为 090510 的已知含量四物合剂 18 份, 每份 0.5 mL, 6 份为一组, 分别加入相当于含量 80%, 100%, 120% 的芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸对照品溶液, 按照“2.2.2”项下方法制备所需溶液, 测定含量, 计算加样回收率。芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸的低、中、高 3 个浓度的平均加样回收率结果见表 2。

表 2 回收率测定结果(n= 6)

Tab 2 Result of recovery test (n= 6)

组分	样品含量 /mg·L ⁻¹	对照品加入量 /mg·L ⁻¹	测得总量 /mg·L ⁻¹	平均回收率 /%	RSD /%
芍药苷	880.2	704.2	1 583.2	99.8	0.96
	880.2	880.2	1 761.8	100.2	0.76
	880.2	1 056	1 935.5	99.9	0.78
腺苷	93.55	74.84	168.1	99.6	1.32
	93.55	93.55	188.2	101.2	0.86
	93.55	112.3	205.6	99.8	1.23
川芎嗪	39.25	31.4	70.26	98.8	0.85
	39.25	39.25	77.9	98.5	1.85
	39.25	47.15	85.9	98.9	0.63
阿魏酸	45.65	36.52	82.31	100.4	1.25
	45.65	45.65	90.8	98.9	0.58
	45.65	54.78	100.3	99.8	0.42

2.8 定量限与检测限 按照信噪比 10: 1, 测得芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸的定量限分别为 9.50, 5.70, 3.02, 8.00 mg·L⁻¹; 按照信噪比为 3: 1 测得上述组分最低检测限分别为 4.75, 2.85, 1.51, 4.00 mg·L⁻¹。

2.9 样品含量测定 分别精密吸取 6 个批次的四物合剂各 1.0 mL, 按“2. 2. 2”项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 以外标法计算含量, 结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果($n = 3, \bar{x} \pm s, \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

Tab 3 Result of samples determination ($n = 3, \bar{x} \pm s, \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

批号	芍药苷	腺苷	川芎嗪	阿魏酸
090510	1 760 ± 2.6	187.1 ± 1.1	78.6 ± 0.4	91.3 ± 1.0
090520	1 758 ± 3.2	188.3 ± 1.2	79.1 ± 0.7	90.9 ± 1.1
090610	1 759 ± 2.1	186.5 ± 1.1	77.9 ± 0.4	92.4 ± 1.0
090620	1 756 ± 3.1	189.5 ± 1.0	79.1 ± 0.33	89.9 ± 1.2
090710	1 762 ± 2.2	185.5 ± 1.1	78.2 ± 0.5	91.2 ± 1.2
090720	1 758 ± 3.2	187.2 ± 1.2	79.0 ± 0.7	89.7 ± 1.3
均值	1 758	187.4	78.7	90.9
RSD/ %	0.12	0.75	0.65	1.11

3 讨论

3.1 检测波长的选择 将芍药苷、腺苷、川芎嗪和阿魏酸的对照品溶液于 200~ 400 nm 波长处进行扫描, 结果显示, 芍药苷在 230 nm 波长处有最大吸收, 腺苷在 260 nm 波长处有最大吸收, 川芎嗪在 282 nm 波长处有最大吸收, 阿魏酸的最大吸收波长为 323 nm, 故选择各组分的最大吸收波长为各自的检测波长。

3.2 流动相的选择 由于分析的组分结构中均有羟基和羧基活性基团, 为保证较好的峰形, 在流动相中加入适量的酸以减少拖尾现象。本实验考察了不同的酸种类(甲酸、醋酸和磷酸), 结果表明, 含有甲

酸的流动相各色谱峰峰形良好; 考察不同的甲酸浓度(0, 0.01%, 0.02%, 0.05%, 0.1%), 结果表明, 含有甲酸的流动相各色谱峰峰形良好, 同时, 当甲酸浓度超过 0.05% 时, 各峰形对称。结果表明, 选择 0.05% 甲酸水溶液-甲醇作为流动相。

3.3 柱温的选择 不同的柱温对于各组分的分离也有一定的影响。本实验分别考察了 20, 25, 30, 35, 40 °C 柱温对色谱分离的影响, 结果显示, 柱温升高, 组分洗脱速度加快, 色谱分离时间短, 但是分离度降低; 柱温降低, 各组分分离度升高, 但色谱分析时间长。综合考虑组分分离度和样本分析时间, 选择 35 °C 作为本实验的柱温。

参考文献:

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 422.
- [2] 敬永升, 胡海廷, 徐晓燕. 高效液相色谱法测定盐酸川芎嗪注射液的含量[J]. 河南大学学报(医学版), 2009, 28(1): 47-49.
- [3] 夏醒醒, 张蓓蕾, 陈勤. RP-HPLC 法测定四物合剂中阿魏酸的含量[J]. 中国药事, 2007, 21(4): 247-249.
- [4] 孟令丹, 陈晓辉, 姚燕, 等. RP-HPLC 法同时测定四物合剂中芍药苷和阿魏酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(10): 1398-1400.
- [5] 王太霞, 李景原, 胡正海. 地黄的形态结构与化学成分研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(5): 585-587.
- [6] 王久富, 谢英新. HPLC 法同时测定四物合剂中芍药内酯苷和芍药苷的含量[J]. 黑龙江医药, 2006, 19(5): 347-348.

[收稿日期] 2010-05-05

丹参配方颗粒中有效成分的比较

杨小英¹, 马泽通¹, 党宏万¹, 马小东² (1. 宁夏医科大学附属医院药剂科, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学药学院 2005 级药学专业)

[摘要] 目的: 分析比较不同厂家丹参配方颗粒中有效成分的含量。方法: 分别运用醇提提取丹参酮 II A 和水提提取丹酚酸 B, 然后采用高效液相色谱法测定有效成分的含量。结果: 5 个厂家的丹参配方颗粒中脂溶性成分丹参酮 II A 的含量差别很大, 其中有 1 家未检测到; 同时 5 个厂家的水溶性成分丹酚酸 B 含量也有一定的差别。结论: 建立由单味中药饮片制备成中药配方颗粒制剂的质量控制标准是十分必要的。

[关键词] 丹参配方颗粒; 丹参酮 II A; 丹酚酸 B

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2011)04-0289-04

Comparison of the effective contents in *Salvia miltiorrhiza* formula granula

YANG Xiaoying¹, MA Zetong¹, DANG Hongwan¹, MA Xiaodong² (1. The Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Ningxia Yinchuan 750004, China; 2. School of pharmacy, Ningxia Medical University)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the effective contents of tanshinone II A and salvianolic acid B in *Salvia miltiorrhiza* formula granula from different manufacturers. **METHODS** The products were extracted with methol for liposoluble components of tanshinone II A and with water for water soluble components of salvianolic acid B. The two contents were determined by

[作者简介] 杨小英, 女, 学士, 副主任药师, E-mail: yxy-1970@163.com [通讯作者] 党宏万, 男, 主任药师, E-mail: dhwbainig@163.com
© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net