HPLC 测定归芍口服液中阿魏酸及芍药苷的含量

★ 王秀芬 （广东省珠海市人民医院 珠海 519000）

摘要：目的：建立归芍口服液中阿魏酸及芍药苷的含量测定方法。方法：采用 HPLC 法测定阿魏酸、芍药苷的含量。结果：本方法线性关系良好，阿魏酸的平均回收率为 100.49%，*RSD* 为 0.95%（$n=5$）；芍药苷的平均回收率为 99.28%，*RSD* 为 0.99%（$n=5$）。结论：此方法简便、准确，重现性好，能排除其它成分的干扰，可用于归芍口服液的质量控制和评价。

关键词：归芍口服液；阿魏酸；芍药苷；HPLC

中图分类号：R 282.5 **文献标识码**：A

归芍口服液是我院的自制制剂，由当归、白芍、川芎等中药组成，具有养血和血、调经缓痛的作用，临床用于月经不调，经行腹痛，血色紫黑不鲜，量时多时少的治疗，本实验采用 HPLC 法测定归芍口服液中阿魏酸及芍药苷的含量，方法简便、准确、重现性好，可作为该制剂含量测定方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪 LC-10A，SPD-10AVP 紫外检测器（日本岛津）；CK chrom data acquieition system（美国 TSP）。

1.2 试药

阿魏酸、芍药苷对照品（中国药品生物制品检定所）；归芍口服液（本院制剂室提供）；超纯水；乙腈、甲醇均为色谱纯，其余为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱：岛津 Shim-pack VP-ODS 柱（4.6 mm×250 mm）；阿魏酸流动相：甲醇-乙腈-1% 冰醋酸溶液（15∶15∶70）；流速：1.0 mL/min；检测波长：320 nm。芍药苷流动相：乙腈-0.1% 冰醋酸-异丙醇（10∶87∶3）；流速：1.0 mL/min；检测波长：230 nm。柱温均为 25 ℃；进样量：20 μL（定量环）。

3 实验方法

3.1 线性关系考察

3.1.1 阿魏酸 精密称取阿魏酸对照品 1.0 mg，置 25 mL 容量瓶中，加 1% 冰醋酸甲醇溶液溶解并稀释至刻度，制成每毫升含 40 μg 的对照品储备溶液。分别精密吸取对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 置 10 mL 容量瓶中，加 1% 冰醋酸甲醇溶液配制成浓度为 2、4、6、8、10 μg/ mL 的对照品溶液，分别以 20 μL 进样，测得峰面积，以浓度（C）对峰面积（A）积分值进行线性回归，求回归方程为 $A=95\,281.6C-17\,249.8$，$r=0.999\,98$。表明阿魏酸在 2.0～10.0 μg/ mL 范围内，线性良好。

3.1.2 芍药苷 精密称取芍药苷对照品 2.1 mg，置 25 mL 容量瓶中，加入甲醇溶解并稀释至刻度，制成每 mL 含 84.0 μg 的对照品储备溶液，精密吸取芍药苷对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置 10 mL 容量瓶中，加甲醇配制成浓度为 8.4、16.8、25.2、33.6、42.0 μg/ mL 的对照品溶液，分别以 20 μL 进样，测得峰面积，以浓度（C）对峰面积（A）积分值进行线性回归，求回归方程为 $A=24\,897.6C+446.2$，$r=0.999\,9$。表明芍药苷在 8.4 ～42.0 μg/ mL 范围内，线性良好。

3.2 空白试验

按处方中药味的比例，分别自制不含当归、川芎及白芍的样品，按其工艺制成 2 种空白制剂，再按供试品溶液制备并测定，结果 2 种空白溶液分别在与阿魏酸对照品和芍药苷对照品相同保留时间处无明显的色谱峰。

3.3 精密度试验

分别精密吸取同一份供试品溶液，每次 20μL，重复进样 6 次，结果阿魏酸及芍药苷平均峰面积的 *RSD* 分别为 0.97%（$n=6$）、1.09%（$n=6$）。

3.4 重复性试验

分别精密吸取同一批样品（批号 031101）各 5 份，照上述色谱条件测定，照 3.6 样品溶液的制备和测定方法进行测定，阿魏酸及芍药苷的 *RSD* 分别为 0.99%、1.03%（$n=5$）。该方法符合重复性要求。

3.5 加样回收率试验

分别精密吸取已知含量的供试品溶液，精密加入一定含量的阿魏酸、芍药苷对照品溶液，依法提取、定容、测定，结果阿魏酸的平均加样回收率为 100.49%，*RSD*＝0.95%（$n=5$）；芍药苷的平均加样回收率为 99.28%，*RSD*＝0.99%（$n=5$）

3.6 供试品溶液制备和测定

3.6.1 阿魏酸 取本品，用冰醋酸调 pH 4～5，精密吸取本品 5 mL，置分液漏斗中，用乙酸乙酯 10、10、5、5 mL 萃取 4

黄连及其二十余种混淆品

★ 朱雪梅 （浙江省温州中医院 温州 325000）

关键词：黄连；混淆品；鉴定

中图分类号：R 282 **文献标识码**：A

黄连始载于《神农本草经》，列为上品，是中医临床一种常用的清热类药，其性味苦寒，功效为清热燥湿，泻火解毒。主要用于湿热痞满，呕吐，泻痢，黄疸，高热神昏，心火亢盛，心烦不寐，血热吐 ，目赤吞酸，牙痛，消渴，痈肿疔疮等症。药典记载黄连来源于毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C Y Cheng et Hsiao 云连 *Coptis teeta* Wall 的干燥根茎。药材依次习称“味连”、“雅连”、“云连”[1]。味连主产四川石柱县，雅连主产四川洪雅、峨嵋等地，云连主产云南德钦、碧江及西藏地区[2]。

我国疆土辽阔，除药典所载的以上三个品种之外，各地存在的混淆品较多。如《本草从新》所言：“黄连，种数甚多：雅州连，细长弯曲，微黄无毛，有硬刺；马湖连，色黑细毛，绣花针头硬刺，形如鸡爪；此二种最佳。云南连，体松，软毛，无硬刺；古勇连（产云南古勇山），体重无毛，无硬刺；此二种次之。水连头（又名鲁连，产川中），体松有毛，无硬刺，又次之。新山连（产广西），光黄性重，断则淡黄色；土连（产处州），色黑，团节（乌药中用之）；鸡屎连，色黑细小，断则淡绿色；以上三种，服之害人。云景连（产云南），色黑，断则红色，不入药。川中种连，色黄，软毛，无硬刺，味微苦而薄。服之无效……”[3]。由此可知，历史上我国各地的混淆品有功效不同者，有无效者，有“害人”者，我们有必要将它们作出区分。以下就此作出肤浅的论述。

1 马尾黄连

为毛茛科植物大叶唐松草 *Thalictrum faberi* Ulbr 及其同属多种植物的根和根茎，主产浙江、江苏、安徽、江西、湖南、河南等地。根丛生于根茎，形

次，合并提取液，水浴蒸干，残渣加 1% 冰醋酸甲醇溶液溶解，并定容于 25 mL 容量瓶中，用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，作供试品溶液。分别吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μL 进样，测定，计算含量。

3.6.2 *芍药苷* 精密吸取本品 5 mL，置 25 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，静置 1 小时，取上清液，滤过，弃去初滤液，精密吸取续滤液 2 mL，置氧化铝小柱上（中性氧化铝 2 g，20 mL 水预洗），以水 25 mL 洗脱，收集洗脱液至 25 mL 容量瓶中，加水至刻度，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，作供试品溶液。分别吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μL 进样，测定，计算含量。4 批样品中阿魏酸及芍药苷的含量结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果（$n=5$） $\mu g \cdot mL^{-1}$

测定成分	阿魏酸		芍药苷	
	含量	*RSD*(%)	含量	*RSD*(%)
030106	46.85	0.95	13.75	1.10
030824	44.95	1.03	13.04	1.06
031227	46.55	0.86	13.53	0.98
040206	45.55	0.92	13.45	1.07

4 讨论

（1）本制剂中当归、川芎其有效成分均为阿魏酸，因此本实验所测为总阿魏酸的含量。（2）采用 HPLC 法测定芍药苷的含量，关健在于如何根据制剂的具体情况有效地排除其它成分的干扰，本实验采用先将样品稀释后直接上中性氧化铝小柱，可排除其它成分干扰，达到分离净化的目的。（3）参照文献报道[1~3]，本文对 HPLC 分析时的流动相系统组成和比例作了比较，对多种溶剂系统进行选择，甲醇-水-磷酸、水-冰醋酸-正丁醇，乙腈-水。根据分离情况，选用了以甲醇-乙腈-1% 冰醋酸溶液（15∶15∶70）测定阿魏酸，乙腈-0.1% 冰醋酸-异丙醇（10∶87∶3）测定芍药苷。（4）本 HPLC 法检测简便、灵敏、准确，重复性好，可用于本品的质量控制。

参考文献

[1] 宋丽军，赵文昌，罗杰，等. HPLC 测定益母增乳膏中阿魏酸的含量[J]. 中成药，2002，24(11)：883～884
[2] 王克祥，范秋霞，窦万有. HPLC 测定新生化冲剂中阿魏酸的含量[J]. 中成药，2003，25(10)：855～856
[3] 张菊红，王志伟，金吉琴，等. 高效液相色谱法测定益妇胶囊中芍药苷的含量[J]. 中成药，2001，23(6)：409

（收稿日期：2007-03-09）