

HPLC 法同时测定升麻葛根汤中四种有效成分的含量

彭晓一 可成友 (沈阳化工学院 沈阳 110142) 王立立 赵春杰 (沈阳药科大学药学院)

摘要 目的: 建立 HPLC 法同时测定升麻葛根汤中 4 种有效成分的含量。**方法:** 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-乙腈-[1.6% 冰醋酸的 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液](12:7:81), 流速: 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长: 320 nm。**结果:** 咖啡酸的线性范围为 0.2~4 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 6$), 平均回收率为 104.0%, RSD 为 0.59%; 葛根素的线性范围为 10~200 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 99.8%, RSD 为 0.63%; 阿魏酸的线性范围为 1~20 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 102.8%, RSD 为 0.96%; 异阿魏酸的线性范围为 2~40 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 6$), 平均回收率为 98.0%, RSD 为 1.37% ($n=9$)。**结论:** 方法简便、快捷、重复性好, 可用于该汤剂的质量控制。

关键词 高效液相色谱法; 升麻葛根汤; 有效成分

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2010)06-0835-03

Simultaneous Determination of 4 Active Components in Decoction of Rhizoma Cimicifugae and Radix Puerariae by HPLC

Peng Xiaoyi¹, Ke Chengyou¹, Wang Lili², Zhao Chunjie² (1. Shenyang Institute of Chemical Technology, Shenyang 110142, China; 2. Shenyang Pharmaceutical University)

ABSTRACT Objective: To determine of 4 components in decoction of rhizoma cimicifugae and radix puerariae by HPLC. **Method:** The separation of 4 components were performed on a Diamonsil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the methanol-acetonitrile-1.6% glacial acetic acid in 0.1 mol·L⁻¹ ammonium acetate solution (12:7:81) as mobile phase, the flow rate was 1.0 ml·min⁻¹, the detection wavelength was at 320 nm. **Result:** The linear ranges of caffeic acid, puerarin, ferulic acid and Isoferulic acid were 0.2-4 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 6$), 10-200 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 5$), 1-20 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 5$), 2-40 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 6$). The average recoveries ($n=9$) were 104.0% ($RSD\ 0.59\%$), 99.8% ($RSD\ 0.63\%$), 102.8% ($RSD\ 0.96\%$) and 98.0% ($RSD\ 1.37\%$) respectively. **Conclusion:** The method is simple, quick and repeatable, it can be used for quality control of decoction of rhizoma cimicifugae and radix puerariae.

KEY WORDS HPLC; Decoction of rhizoma cimicifugae and radix puerariae; Active components

升麻葛根汤源于《阎氏小儿方论》, 又名平血饮, 由升麻 10 g、葛根 15 g、芍药 10 g、甘草 10 g 四味药组成。该方辛凉解肌, 透疹解毒。主治麻疹初起, 疹发不出, 身热头痛, 咳嗽等^[1]。现代临床研究表明该方有治疗诸多疑难杂症^[2] 屡见奇效, 并在乙型肝炎及丙肝方面^[3], 疗效显著。方中升麻辛

凉解肌透疹, 为君药; 葛根解肌发表, 生津除热, 为臣药, 其合君药升麻辛能达表, 为解肌透疹之要药; 芍药合营泄热, 为佐药; 炙甘草调和诸药, 为佐使药。作者同时测定升麻葛根汤中 4 种有效成分的含量^[4,5], 从而能更加全面、有效地控制该制剂的质量, 采用优化的工艺进行提取, 为新剂型的开发

通讯作者: 赵春杰 Tel: (024) 23986299 E-mail: zcjljj@sina.com

方法, 测定条件容易掌握, 故本试验选用该流动相。

3.2 提取方法的选择

贝母素甲属生物碱成分, 在碱性条件下有机溶剂提取是通用的方法, 有文献报道用氨水碱化后, 氯仿多次萃取, 蒸干的方法, 经试验, 此方法乳化现象严重, 提取不完全, 测定结果不平行。混合溶剂加热回流法虽费时, 但测定结果偏差较小, 本试验用此法, 取得结果较可靠。

3.3 定量指标的选择

样品色谱图中, 贝母素甲前面的另一较低色谱峰经用贝母辛对照品对照, 证明是贝母辛峰, 但此成分在本试验测试系统下色谱峰较低, 不宜用来定量, 所以本文仍以贝母素甲为定量控制指标。

参考文献

- 肖培根, 姜艳, 李萍. 中药贝母的基原植物和药用亲缘学的研究[J]. 植物分类学报, 2007, 45(4): 473-474
- 杨晓丽, 吕卓. HPLC 法测定咳嗽舒片中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国药品标准, 2009, 10(1): 59-61
- 田静, 许亚玲, 陶金. HPLC 法测定小儿化痰止咳冲剂中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国药事, 2006, 20(1): 53-54
- 马双成, 张树藩, 鲁静, 等. HPLC-ELSD 法测定鹤鹑片中贝母素甲和贝母素乙的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1): 118-120
- 韩静, 丁永辉, 宋平顺. HPLC-ELSD 法测定平贝母中贝母素甲和贝母素乙的含量[J]. 中国药师, 2009, 29(5): 595-596
- 黄林芳, 陈士林, 刘辉, 等. HPLC-ELSD 法测定不同加工方法川贝母中 3 种生物碱[J]. 中成药, 2009, 31(10): 1560-1464

(2010-01-05 收稿 2010-03-12 修回)

提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),BS110 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),TG332A 型微量分析天平(上海分析天平厂)。

甲醇、乙腈均为色谱纯(山东禹王实业有限公司化工分公司),无水乙醇、冰醋酸均为分析纯,试验用水为三蒸水。

咖啡酸对照品,批号 110885-200102,纯度大于 98%、葛根素对照品,批号 080106,纯度大于 98%(上海融乐医药科技有限公司)、阿魏酸对照品,批号 0773-9910,纯度大于 98%、异阿魏酸对照品,批号 111698-200602,纯度大于 98%,除葛根素外,其余均购于中国药品生物制品检定所。

升麻、葛根、芍药、甘草均购于沈阳天益堂大药房。经沈阳药科大学中药学院贾景明副教授鉴定升麻为毛茛科植物大三叶升麻 *Cimicifuga heracleifolia* kom,葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata*(Willd)Ohwi 的干燥根,赤芍为毛茛科植物芍药的根茎 *Paeonia lactiflora* Pall,甘草为豆科植物甘草的茎 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diomonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),柱温:30℃,流动相:甲醇-乙腈-[1.6%冰醋酸的 0.1 mol·L⁻¹醋酸铵溶液](12:7:81);流速:1.0 ml·min⁻¹,检测波长:320 nm,进样量:20 μl。

2.2 系统适用性试验

取对照品溶液供试品溶液及阴性样品各 20 μl 注入色谱仪,记录色谱图。理论塔板数按咖啡酸、葛根素、阿魏酸、异阿魏酸峰计算分别不低于 3 000,3 000,7 000,8 000。各色谱峰与相邻色谱峰的分离度均大于 1.5。拖尾因子均在 0.95~1.05 之间。见图 1。

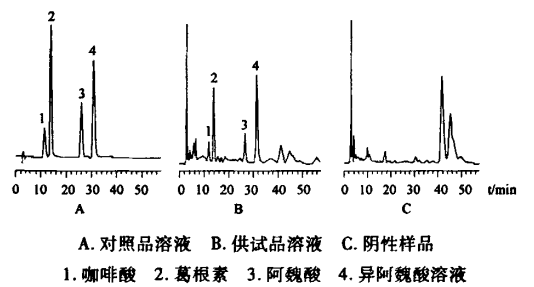


图 1 升麻葛根汤高效液相色谱图

2.3 供试品溶液的制备

按升麻葛根汤处方比 1/10 称取升麻、葛根、赤芍、甘草药材粉末约 4.5 g,用 12 倍量水提取 3 次,每次 1.5 h,合并滤液,过滤,浓缩,于膏转移置 50 ml 量瓶中,用水洗涤滤器,合并洗液和滤液,用水稀释至刻度摇匀。精密吸取 1 ml 溶液置 5 ml 量瓶中,用水稀释至刻度摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤,滤液即为供试品溶液。同时取不含升麻、葛根的阴性样品,按“2.3”项下方法制备阴性样品溶液。

2.4 精密度试验

取“2.7”项下对照品溶液各 20 μl(咖啡酸、葛根素、阿魏酸及异阿魏酸)测定峰面积,共 5 次,其 RSD 分别为 1.20%、0.75%、0.58%、0.46%(n=5)。

2.5 稳定性试验

取供试品溶液室温下放置,进样 20 μl 分别于 0,2,4,8,12,24 h 在“2.1”项下色谱条件测定咖啡酸、葛根素、阿魏酸及异阿魏酸的峰面积,其 RSD 分别为 1.52%、1.81%、1.61%、0.80%(n=6)供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验

取同一批样品 6 份,按“2.3”项下方法制备供试液,进样 20 μl 测定,咖啡酸、葛根素、阿魏酸、异阿魏酸含量分别为 1.69,25.89,2.07,9.32 μg·ml⁻¹,RSD 分别为 1.27%,1.70%,1.86%,1.65%(n=6)。

2.7 标准曲线的绘制

称取咖啡酸、葛根素、阿魏酸、异阿魏酸对照品适量,精密称定,分别加甲醇溶解并制成每 1 ml 含 2 mg 的咖啡酸对照品储备液,每 1 ml 含 4 mg 的葛根素对照品储备液,每 1 ml 含 1 mg 的阿魏酸对照品储备液,每 1 ml 含 4 mg 的异阿魏酸对照品储备液。分别精密量取咖啡酸、葛根素、阿魏酸、异阿魏酸对照品储备溶液适量,用甲醇分别稀释成咖啡酸浓度为 0.2,0.4,0.8,2,4 mg·L⁻¹、葛根素浓度为 10,20,40,80,200 mg·L⁻¹、阿魏酸浓度为 1,2,4,8,20 mg·L⁻¹、异阿魏酸浓度为 2,4,8,20,40 mg·L⁻¹的对照品系列溶液按“2.1”色谱条件进样 20 μl 记录色谱图。以对照品峰面积为纵坐标,对照品浓度为横坐标,经线性回归。咖啡酸、葛根素、阿魏酸、异阿魏酸分别在:0.2~4,10~200,1~20,2~40 mg·L⁻¹,峰面积与浓度呈良好的线性关系,所得的回归方程为:咖啡酸 Y=0.015 2X+0.105 7,r=0.999 6;葛根素 Y=0.055 6X-0.413 7,r=0.999 5;阿魏酸 Y=0.010 8X+0.074 7,r=0.999 5;异阿魏酸 Y=0.010 5X+0.374,r=0.999 6。

2.8 加样回收率试验

按处方比例精密称取药材约 4.5 g 进行制备同一批号并测定含量的升麻葛根汤样品。精密量取 9 份,按 80%、100%、120% 的比例分别加入咖啡酸、葛根素、阿魏酸、异阿魏酸对照品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,进样 20 μl 测定,计算回收率。咖啡酸、葛根素、阿魏酸及异阿魏酸的平均回收率分别为 104.0%(RSD 0.59%),99.8%(RSD 0.63%),102.8%(RSD 0.96%),98.0%(RSD 1.37%)(n=9)。

2.9 样品含量测定

取样品照“2.3”项下方法制成供试品溶液,进样 20 μl 测定,照外标法(峰面积)计算含量。结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果(n=5)

样品批号	咖啡酸 (μg·ml ⁻¹)	葛根素 (μg·ml ⁻¹)	阿魏酸 (μg·ml ⁻¹)	异阿魏酸 (μg·ml ⁻¹)
090501	1.70	26.05	2.06	9.31
090502	1.74	26.04	2.05	9.35
090503	1.71	26.05	2.07	9.41
090504	1.71	26.05	2.06	9.29
090505	1.72	26.05	2.07	9.33

HPLC法同时测定宣肺止咳糖浆中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量

黄良永 王永慧 雷震 郑江萍 (鄢阳医学院附属太和医院药学部 湖北十堰 442000)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法同时测定宣肺止咳糖浆中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷含量的方法。**方法:** 采用 Luna C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (加入 0.1% 三乙胺) (10:90) 为流动相, 流速 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长 210 nm, 柱温 30 ℃。**结果:** 盐酸麻黄碱在 2.2 ~ 111.5 μg·ml⁻¹ 范围内有良好的线性关系, $r=0.999\ 6$, 平均回收率为 96.4%, RSD 为 1.34% ($n=9$); 苦杏仁苷在 20.4 ~ 1 020.0 μg·ml⁻¹ 范围内有良好线性关系, $r=0.999\ 9$, 平均回收率为 99.0%, RSD 为 0.50% ($n=9$)。**结论:** 方法可同时测定盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量, 简便, 准确, 重复性好, 可作为宣肺止咳糖浆的质量控制。

关键词 高效液相色谱法; 盐酸麻黄碱; 苦杏仁苷; 宣肺止咳糖浆; 含量测定

中图分类号: R927.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-049X(2010)06-0837-02

Determination of Ephedrine Hydrochloride and Amygdalin in Xuanfei Zhike Syrups by HPLC

Huang Liangyong, Wang Yonghui, Lei Zhen, Zheng Jiangping (Department of Pharmacy Affiliated Taihe Hospital, Yunyang Medical College, Hubei Shiyan 442000, China)

ABSTRACT Objective: To establish an HPLC method for determination of ephedrine hydrochloride and amygdalin in xuanfei zhike syrups. **Method:** The Luna ODS C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was acetonitrile-0.1% Phosphoric acid solution (contain 0.1% Triethylamine) (10:90), the flow rate was 1.0 ml·min⁻¹, the detection wavelength was 210 nm, the Column temperature was 30 ℃. **Result:** The linear ranges of ephedrine hydrochloride and amygdalin were 2.2-111.5 μg·ml⁻¹, $r=0.999\ 6$, 20.4-1 020.0 μg·ml⁻¹, $r=0.999\ 9$, the average recoveries ($n=9$) were 96.4% ($RSD=1.34\%$), and 99.0% ($RSD\ 0.50\%$) respectively. **Conclusion:** This method is simple, accurate, and repeatable, it can be used for quality control of xuanfei zhike syrups.

KEY WORDS HPLC; Ephedrine hydrochloride; Amygdalin; Xuanfei zhike syrup; Content determination

宣肺止咳糖浆是我院研制的中药复方制剂, 批准文号为鄂药制字 Z20082627, 具有宣肺平喘, 止咳化痰作用。处方由蜜麻黄、炒苦杏仁、石膏、胆南星、浙贝母、大青叶、连翘、金银花、玄参、蒲公英十味中药组成, 蜜麻黄和炒苦杏仁为君药, 原标准中仅有两项鉴别反应, 没有定量指标; 而对蜜麻黄和炒苦杏仁的主要成分盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的测定方法, 文献^[1-5]中均采用不同的色谱系统和不同的样品处理方法, 操作繁琐、费时; 本文建立了一种同时测定盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的 HPLC 法, 操作简便, 省时, 准确性和重复性好, 可作为宣肺止咳糖浆的质量控方法, 现报道如下。

1 仪器与试剂

DIONEX Ultimate3000 高效液相色谱仪 (美国戴安公司,

低压四元梯度泵、自动进样器、多波长紫外检测器、柱温箱); 变色龙色谱工作站 (美国戴安公司); Luna C₁₈ 色谱柱 (广东菲罗门公司, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm); UP5200H 超声清洗机 (熊猫集团电子计量有限公司); FA2004 电子分析天平 (上海分析仪器厂); 甲醇为色谱纯; 水为高纯水; 其它试剂均为分析纯。

盐酸麻黄碱对照品 (批号: 0714-9903), 苦杏仁苷对照品 (批号 820-200002) 均由中国药品生物制品检定所提供; 宣肺止咳糖浆 (本院制剂室生产, 批号: 090402, 090519, 090805)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Luna C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙

通讯作者: 郑江萍 Tel: (0719) 8801103 E-mail: zhengjp68@126.com

3 讨论

3.1 作者考察了 230 ~ 320 nm 不同吸收波长图谱, 发现 320 nm 波长下咖啡酸、阿魏酸、异阿魏酸的吸收均较大, 图谱特征性强, 故选择 320 nm 为检测波长。

3.2 由于咖啡酸、阿魏酸和异阿魏酸都是有机酸, 且葛根素的酚羟基具有一定酸性, 易电离, 醋酸铵溶液加入少量冰醋酸可减少拖尾, 改善峰形, 且分离效果较好。当 (甲醇-乙腈) 比例大时阿魏酸和异阿魏酸不能达到良好的分离, 因此选择甲醇-乙腈- [1.6% 冰醋酸] 的 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸铵水溶液 (12:7:81) 为流动相。

参 考 文 献

- 1 陈翠英. 升麻葛根汤的临床应用体会[J]. 肇庆医药杂志, 1999, 2(32): 32-33
- 2 张团昌. 升麻葛根汤临床应用举隅[J]. 山西中医学院学报, 2003, 4(4): 36-36
- 3 朱伊彬. 升麻葛根汤加味治疗乙型肝炎 300 例[J]. 安徽中医临床杂志, 1997, 9(5): 252-254
- 4 潘瑞乐, 陈迪华, 沈建刚, 等. 高效液相色谱法测定中药升麻中阿魏酸和异阿魏酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(6): 396-398
- 5 宋金春, 唐开勇, 王宗春. 葛根川芎煎液中葛根素和阿魏酸的含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(4): 426-428

(2009-09-22 收稿 2010-03-02 修回)

HPLC法同时测定升麻葛根汤中四种有效成分的含量

作者: [彭晓一](#), [可成友](#), [王立立](#), [赵春杰](#), [Peng Xiaoyi](#), [Ke Chengyou](#), [Wang Lili](#),
[Zhao Chunjie](#)
作者单位: [彭晓一,可成友,Peng Xiaoyi,Ke Chengyou\(沈阳化工学院,沈阳,110142\)](#), [王立立,赵春杰](#),
[Wang Lili,Zhao Chunjie\(沈阳药科大学药学院\)](#)
刊名: [中国药师](#)[ISTIC](#)
英文刊名: [CHINA PHARMACIST](#)
年, 卷(期): 2010, 13 (6)

参考文献(5条)

1. 宋金春;唐开勇;王宗春 [葛根川芎前液中葛根素和阿魏酸的含量测定](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2006 (04)
2. 潘瑞乐;陈迪华;沈建刚 [高效液相色谱法测定中药升麻中阿魏酸和异阿魏酸的含量](#) 2000 (06)
3. 朱伊彬 [升麻葛根汤加味治疗乙型肝炎300例](#) 1997 (05)
4. 张团昌 [升麻葛根汤临床应用举隅](#)[期刊论文]-[山西中医学院学报杂志](#) 2003 (04)
5. 陈翠英 [升麻葛根汤的临床应用体会](#) 1999 (32)

本文读者也读过(10条)

1. [刘传波](#). [LIU Chuan-bo](#) [三峡库区“海事巡航与救助一体化”存在的问题及对策](#)[期刊论文]-[物流工程与管理](#) 2009, 31 (3)
2. [赵东滨](#). [栾明杰](#) [大用户电能计量装置改造的思考与建议](#)[期刊论文]-[活力](#)2010 (6)
3. [黄运强](#) [企业注重成本管理方可“步步为营”](#)[期刊论文]-[现代商业](#)2010 (14)
4. [苏颖](#) [抗战时期蔡畅的妇女解放思想](#)[期刊论文]-[时代经贸 \(学术版\)](#) 2006, 4 (z1)
5. [桑波之](#) [企业集团财务管理模式探析](#)[期刊论文]-[时代经贸 \(学术版\)](#) 2008, 6 (1)
6. [姜辉](#). [吴芙蓉](#). [夏伦祝](#). [陈纪军](#). [李俊](#) [奇士乐对免疫性肝损伤小鼠的保护作用](#)[期刊论文]-[中国中医急诊](#) 2010, 19 (6)
7. [洪博](#). [吴健](#). [尹运涵](#). [刘孟斯](#). [赵春杰](#). [Hong Bo](#). [Wu Jian](#). [Yin Yunhan](#). [Liu Mengsi](#). [Zhao Chunjie](#) [气相色谱法测定罗芙木中11种残留农药](#)[期刊论文]-[中国药师](#)2010, 13 (5)
8. [李丹](#). [左金梁](#). [白璐](#). [余爽](#). [赵春杰](#). [LI Dan](#). [ZUO Jin-liang](#). [BAI Lu](#). [YU Shuang](#). [ZHAO Chun-jie](#) [火焰原子吸收光谱法测定血府逐瘀方中微量元素的含量](#)[期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#)2008, 25 (4)
9. [宋欣鑫](#). [张宁](#). [吴昊](#). [谷艳](#). [赵春杰](#). [SONG Xin-xin](#). [ZHANG Ning](#). [WU Hao](#). [GU Yan](#). [ZHAO Chun-jie](#) [胃痛平糖浆的质量标准](#)[期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#)2007, 24 (7)
10. [陈纪军](#). [张壮鑫](#). [周俊](#). [CHEN Ji-Jun](#). [ZHANG Zhuang-Xin](#). [ZHOU Jun](#) [通光藤甙F, G, H和I结构](#)[期刊论文]-[云南植物研究](#)1999, 21 (3)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgys201006030.aspx