

# 高效液相色谱法测定胡黄连及清热八味散中阿魏酸

尹德忠<sup>1</sup> 赵红侠<sup>2</sup> 吴耀国<sup>1</sup> 刘建勋<sup>1</sup>

(1 西北工业大学理学院 西安 710072)

(2. 陕西诚信制药有限公司 渭南 715200)

**摘 要** 本文建立反相高效液相色谱法测定胡黄连药材及其制剂清热八味散中阿魏酸含量的方法。采用 C18-ODS 柱, 乙腈-0.05% 磷酸溶液 (15:85) 为流动相; 313nm 检测。阿魏酸线性范围 52.0 ~ 520  $\mu\text{g}$ ,  $r=0.9995$ , 胡黄连药材和清热八味散平均回收率分别为 98.85% 和 98.32%, 含量测定重复性 RSD 分别为 1.4% 和 1.5%。方法准确, 重复性好, 为制定胡黄连药材及其制剂的质量标准提供参考依据。

**关键词** 高效液相色谱法 胡黄连 清热八味散 阿魏酸

胡黄连为我国传统中药之一, 中国药典 1977 至今各版收录的均为西藏胡黄连的干燥根茎, 具有清湿热、除骨蒸、消痞积功效。清热八味散收载于《中华人民共和国卫生部药品标准 蒙药分册》<sup>[1]</sup>, 由檀香、石膏、红花、苦地丁、瞿麦、胡黄连、麦冬、牛黄八味药材组成, 具有清热解毒功效, 用于炽热, 血热, 腑脏之热, 肺热咳嗽, 痰中带血, 肝火肋痛。

胡黄连的主要活性成分为 3 种胡黄连甙 (picroside I ~ III)<sup>(2,3)</sup>, 其结构中分别含有桂皮酰基、香草酰基和阿魏酰基。测定胡黄连水解后所得的阿魏酸, 可以衡量胡黄连药材质量, 控制清热八味散制剂质量。本文采用反相高效液相色谱法测定了胡黄连药材和清热八味散中阿魏酸的含量, 方法准确, 重复性好, 实用性强。

## 1 仪器、试剂和样品

L2000 高效液相色谱仪, 紫外可见检测器, N2000 色谱工作站; UV-2550 紫外-可见分光光度计; Sartorius BP211D 型电子天平; SB3200-T 型超声清洗。

阿魏酸对照品 (773-9910, 含量测定用) 购自中国药品生物制品检定所; 胡黄连药材采自云南楚雄, 清热八味散及其阴性样品由陕西诚信制药有限公司提供 (批号 20050912); 乙腈为色谱纯, 超纯水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 实验方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack ODS 色谱柱 (250mm  $\times$  4.6mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸溶液 (15:

85); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 313nm。

### 2.2 对照品溶液

精密称取阿魏酸对照品适量, 置棕色量瓶中, 加甲醇-冰醋酸 (100:2) 溶液制成每 1mL 含 40  $\mu\text{g}$  的溶液。

### 2.3 供试品溶液

取药材适量, 粉碎过 100 目筛, 称取 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 50.0mL, 称定重量, 放置过夜, 超声 1h, 再称定重量, 用甲醇补足损失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10.0mL, 水浴蒸干。残渣用 1% 氢氧化钠溶液 30.0mL 分 3 次溶解, 转移入回流烧瓶中, 水浴回流 3h, 放冷。移入分液漏斗中, 用 5.0mL 水洗涤烧瓶, 洗涤液并入分液漏斗中, 用盐酸调 pH=2, 用乙醚萃取 4 次, 每次 20.0mL, 合并乙醚液, 在 50~60℃ 水浴上蒸至近干, 用甲醇-冰醋酸 (100:2) 溶液溶解至 10.0mL, 滤过, 滤液作为药材供试品溶液。

另取清热八味散粉末适量, 研细, 称取 4g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 同药材供试溶液制备方法制备制剂供试品溶液。

## 3 结果

### 3.1 线性关系

精密称取阿魏酸对照品适量, 加甲醇制成每 1.0mL 含 52.0  $\mu\text{g}$  的储备溶液。精密移取此储备溶液适量, 置棕色量瓶中, 加甲醇-冰醋酸 (100:2) 溶液制成对照品系列溶液。分别精密进样 10  $\mu\text{L}$ , 将峰面积 (Y) 与进样量 X ( $\mu\text{g}$ ) 进行回归, 得线性方程  $Y = 69352X + 10543$ ,  $r = 0.9995$ 。阿魏酸在 52.0 ~ 520  $\mu\text{g}$  的范围内, 峰面积与进样量呈良好的线性关系。

### 3.2 精密度和稳定性试验

精密进样同一供试品溶液 10 $\mu$ L,重复 5 次,药材供试品溶液和制剂供试品溶液峰面积 RSD 分别为 0.79% 和 1.1%;上述溶液室温保存,分别在 0h,2h,4h,8h,12h 内进样,药材供试品溶液和制剂供试品溶液峰面积 RSD 分别为 1.2% 和 1.4%。

3.3 回收率试验

表 1 回收率试验结果表

	样品含量(mg)	加入量(mg)	测定量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
胡黄连	1.225	1.033	2.264	100.58	98.85	1.6
	1.306	1.033	2.313	97.45		
	1.256	1.291	2.543	99.63		
	1.278	1.291	2.558	99.15		
	1.152	1.549	2.647	96.51		
	1.169	1.549	2.715	99.79		
制剂	1.217	1.033	2.215	96.56	98.32	1.7
	1.334	1.033	2.339	97.28		
	1.247	1.291	2.548	100.72		
	1.213	1.291	2.481	98.15		
	1.207	1.549	2.755	99.94		
	1.158	1.549	2.665	97.24		

3.4 样品测定

精密称取胡黄连药材和清热八味散各 5 份,按试验方法进行 10 $\mu$ L 测定结果(见表 2,图 1)。

表 2 样品测定结果

	阿魏酸含量(mg·g <sup>-1</sup> )						平均值(mg·g <sup>-1</sup> )	RSD(%)
胡黄连	5.21	5.15	5.07	5.25	5.13	5.16	5.16	1.4
清热八味散	0.631	0.625	0.623	0.621	0.644	0.629	0.629	1.5

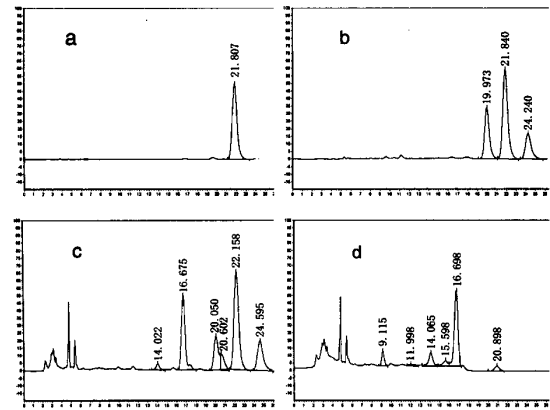


图 1 阿魏酸测定的 HPLC 色谱图

a. 阿魏酸对照品; b. 胡黄连; c. 清热八味散; d. 胡黄连阴性; 横坐标为 T<sub>R</sub>(min), 纵坐标为电压(mV)

4 讨论

以甲醇-冰醋酸(100:2)溶液为参比,扫描阿魏

精密称取胡黄连干燥粉末 0.2g 及清热八味散 2g 各 6 份,分成 3 组,分别精密加入阿魏酸对照品溶液(浓度为 0.1291mg/mL, 甲醇溶解) 8.0mL、10.0mL、12.0mL,并精密补加甲醇,使加入甲醇的总体积为 50.0mL,按 2.3 方法制备供试品溶液,测定回收率(见表 1)。

酸对照溶液的紫外吸收光谱,结果阿魏酸在 313nm 处有最大吸收,将此波长选作样品的测定波长。方法试验了乙腈-0.05% 磷酸溶液、乙腈-2% 醋酸溶液、甲醇-0.05% 磷酸溶液、甲醇-1% 甲酸溶液等体系,结果以乙腈-0.05% 磷酸溶液体系效果最理想。改变溶剂配比,结果乙腈-0.05% 磷酸溶液(15:85)时达到完全分离。

参考有关文献[4],试验研究溶液 pH 值对水解过程的影响,分别采用 3% HCl 溶液、1% HCl 溶液、1% NaOH 溶液、3% NaOH 溶液 30mL 分次溶解后,水解 3h。结果碱水解时阿魏酸提取率较酸水解高,碱浓度为 1% 和 3% 提取率无差异,故确定运用 1% NaOH 溶液水解。

阿魏酸稳定性较差,而在醋酸溶液中稳定性增加。实验以甲醇-醋酸溶液配制溶液,并置棕色瓶中,溶液在 12h 内稳定。

参考文献

1 中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药标准,1998,175  
2 钱士辉,濮社班. 中药胡黄连的研究进展,中国野生植物资源,1997,16(2):11~14  
3 王晓燕,庞建新. 胡黄连总甙对小鼠免疫性肝损伤的保护作用,广西医科大学学报,2002,19(4):524~526  
4 黄劲梅,郑清瑗,梁惠珍. 胡黄连中香草酸、阿魏酸和肉桂酸的含量测定,中药材,2002,25(12):881~882

间校正和谱峰自动匹配,4. 指纹图谱相似度计算,5. 结果输出和报表打印。使用此软件系统能快速地进行谱峰匹配和相似度计算,节约时间且准确度高。

但此软件还有两个不足,1. 最多只能导入 10 个样本,有数量限制,如样本较多时,要重新导入标准样本进行计算,多花费时间。2. 整体相似性小数位数只有两位,还不够精确。

综上,此软件系统虽为中药质量控制而研制开发,但在香精香料的色谱分析中也能发挥重要的作用,故而在香精香料的色谱分析具有极为重要的推广使用价值。

### 参考文献

- 1 杨虹,苏国岁. 烟用香精的 GC-MS 指纹图谱,分析测试学报,2004,23(25):278~281
- 2 王玉,徐若飞,徐济仓等. 烟用香精香料指纹图谱与质控体系的研究,2004 年中国烟草学会工业专业委员会香精香料学组,248~250
- 3 王钧、赵曰利. 色谱指纹图谱对香精香料质量控制的研究,中国测试技术,2005,31(3):45~46
- 4 王钧、赵曰利. 色谱指纹图谱在香精香料质量控制中的应用,分析测试技术与仪器,2005,11(3):192~196

## Caculation software of traditional medicine fingerprint similarity of Zhejiang University is put into GC analysis of tobacco flavor and perfume

Wang Jun Zhao Yueli

(Etsong Tobacco Group Co., Ltd. Tengzhou Cigarette Factory, Tengzhou 277500)

**Abstract** The article briefly introduces five basic functions of the calculation software of traditional medicine fingerprint similarity of Zhejiang University. 1 Input the data. 2 Deal with data in advance and compare chromatogram fingerprints. 3 Retention time to indentify and math the peaks automatically. 4 The calculation of chromatogram fingerprint similarity. 5 Output the result and print it. the software used to calculate the similarity of chromatogram fingerprint is easy to learn. The key to operation is to explain is in detail by giving words and pictures. The software explains the operation process by analyzing the chromatographic fingerprint of the flavor and perfume, for example, explaining how to indentify and match the peaks and how to calculate the similarity.

**Key words** Calculation of similarity software Traditional medicine fingerprint Flavor and perfume Quality control Chemometrics

(上接第 40 页)

## Determination of ferulic acid in Picrohiza scrophulariiflora Pennell and Qingre Bawei San by HPLC

Yin Dezhong<sup>1</sup> Zhao Hongxia<sup>2</sup> Wu Yaoguo<sup>1</sup> Liu Jianxun<sup>1</sup>

(1. School of Sciences, Northwestern Polytechnical University, Shanxi Xi'an 710072)

(2. Shanxi Chengxin Pharmaceutical Co. Ltd, Shanxi Weinan 715200)

**Abstract** A RP-HPLC method was described for determination of ferulic acid in Picrohiza scrophulariiflora Pennell and its preparation Qingre Bawei San. C<sub>18</sub>-ODS column was used with a mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (15:85) and the detection wavelength was 313nm. The calibration curve was linear in the range of 52.0~520μg ferulic acid( $r=0.9995$ ). The average recovery was 98.85% and 98.32%, the RSD of reproducibility was 1.4% and 1.5% for Picrohiza scrophulariiflora Pennell and Qingre Bawei San respectively. The method was accurate with a good reproducibility and provided basis for developing quality control method for Picrohiza scrophulariiflora Pennell and its preparation.

**Key words** HPLC Picrohiza scrophulariiflora Pennell Qingre Bawei San Ferulic acid