

# HPLC 测定醒脑静注射液中莪术二酮及吉马酮的含量

杨立新<sup>1</sup>, 刘薇薇<sup>2</sup>, 甘国锋<sup>2</sup>, 周福康<sup>2</sup>, 何希荣<sup>1</sup>, 李春<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

2. 无锡济民可信山禾药业股份有限公司, 江苏 无锡 214028)

**[摘要]** 目的: 建立醒脑静注射液中莪术二酮及吉马酮的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 对醒脑静注射液中莪术二酮和吉马酮进行含量测定。Waters symmetry C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(60:40), 检测波长 210 nm, 柱温 35 ℃, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 莪术二酮在 0.072 9 ~ 1.98 μg ( $r=0.999\ 9$ ), 吉马酮在 0.023 2 ~ 0.58 μg ( $r=0.999\ 9$ ) 呈良好的线性关系。莪术二酮和吉马酮的平均回收率分别为 99.47%, 100.2%, RSD 分别为 2.73%, 2.94%。结论: 所建立的方法简便, 重复性好, 可用于醒脑静注射液的质量控制。

**[关键词]** 醒脑静注射液; 莪术二酮; 吉马酮; 高效液相色谱; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0136-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013170136

## Simultaneous Determination of Curdione and Germacrone in Xingnaojing Injection Using High Performance Liquid Chromatography

YANG Li-xin<sup>1</sup>, LIU Wei-wei<sup>2</sup>, GAN Guo-feng<sup>2</sup>, ZHOU Fu-kang<sup>2</sup>, HE Xi-rong<sup>1</sup>, LI Chun<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Wuxi Jiminkexin Shanhe Pharmaceutical Limited Corporation, Wuxi 214028, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for simultaneous quantitative determination of curdione and germacrone in Xingnaojing injection. **Method:** HPLC was used to determine the content of curdione and germacrone in Xingnaojing injection. The analysis was performed on an Waters symmetry C<sub>18</sub> column. The mobile phase was acetonitrile-water (60:40), the monitoring wavelength was 210 nm, the column temperature was 35 ℃ and the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** The linear ranges of curdione and germacrone were 0.072 9-1.98 μg ( $r=0.999\ 9$ ) and 0.023 2-0.58 μg ( $r=0.999\ 9$ ) respectively. The average recovery of curdione and germacrone were 99.47% (RSD 2.73%) and 100.2% (RSD 2.94%) respectively, which showed the method was reliable. **Conclusion:** The method was simple and repeatable, and can be used for the quality control of Xingnaojing injection.

**[Key words]** Xingnaojing Injection; curdione; germacrone; HPLC; content determination

醒脑静注射液是由麝香、郁金、冰片和栀子 4 味中药制成的中药注射液, 具有清热解毒、凉血活血、开窍醒脑之功效, 临床上主要用于中风昏迷、颅脑外

伤、神志昏迷、脑栓塞等急症的治疗, 是临床常用的中成药急救药品, 是脑中风急症、危症治疗的临床一线用药品种<sup>[1]</sup>。近年来, 还广泛用于治疗急性中毒、脑血管疾病、冠心病、脑炎、急性小儿感染性高热、中暑、肺性脑病、呼吸衰竭、肝性脑病等, 是国家中医药管理局确定的全国中医医院急诊必备中成药之一<sup>[2-3]</sup>。

醒脑静注射液创制于 20 世纪 70 年代, 是在经典镇惊开窍药物安宫牛黄丸基础上经水蒸气蒸馏工

**[收稿日期]** 20121121(611)

**[第一作者]** 杨立新, 副研究员, 从事中药分析, Tel: 010-64014411-2971, E-mail: ayblex@126.com

**[通讯作者]** \* 李春, 副研究员, 从事中药化学及质量分析研究, Tel: 010-64014411-2984, E-mail: lichun@icmm.ac.cn

艺提取而制备的中药注射液,其中所含成分主要为挥发性小分子。醒脑静注射液最先收载于地方标准,1998年收载于《卫生部药品标准》第17册,2003年再次提高标准为国家药品监督管理局国家药品标准 WS3-B-3353-98-2003<sup>[4]</sup>。现行质量标准仍然是2003年的国家药品标准,标准中仅采用气相色谱法以醒脑静中冰片的含量(不低于 $0.7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )为指标进行质控,亟待完善。近年来,人们采用多种方法对醒脑静注射液中的麝香酮含量进行了测定,测定方法有气相色谱法<sup>[5-6]</sup>,气质联用方法<sup>[7]</sup>,衍生化后液相色谱法<sup>[8]</sup>等。现代药理学发现,郁金挥发油具有抗菌<sup>[9]</sup>、抗病毒<sup>[10]</sup>、抗炎<sup>[11]</sup>等作用,这与醒脑静注射液清热解毒的功效相吻合,但至今未见对醒脑静注射液中来自郁金的活性成分的含量测定研究。本研究拟选择郁金挥发油中主要成分莪术二酮和吉马酮为检测指标,建立醒脑静注射液中上述两成分的含量测定方法,为有效控制醒脑静注射液质量提供依据。

## 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪(SIL-20A 自动进样器、CTO-10AS 柱温箱、SPD-M20A 检测器);Labsolutions 工作站,乙腈色谱纯,娃哈哈纯净水,Agilent technologies  $C_8$  固相萃取小柱(100 mg:1 mL)。莪术二酮(批号 E-009-110603)和吉马酮(批号 111665-201103)对照品由中国食品药品检定研究院提供,纯度均 $>98\%$ 。12批醒脑静注射液样品均由无锡济民可信山禾药业有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Waters symmetry  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈-水(60:40),检测波长 210 nm,柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 。混合对照品、醒脑静注射液及阴性样品的 HPLC 见图 1 所示。

### 2.2 样品的制备

#### 2.2.1 对照品溶液的制备

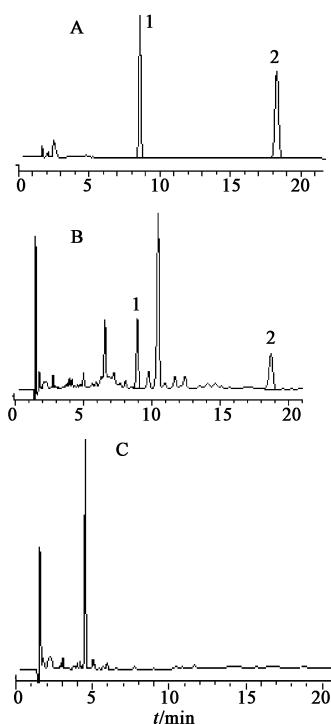
精密称取减压干燥恒重的莪术二酮、吉马酮对照品适量,加甲醇溶解配制含莪术二酮 $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、吉马酮 $0.03\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合溶液,作为对照品溶液。

#### 2.2.2 供试品溶液的制备

精密量取本品 5 mL,通过  $C_8$  小柱(100 mg:1 mL)( $C_8$  小柱先用无水乙醇浸泡,再用水 20 mL 预洗),水溶液弃去,用甲醇洗脱,收集洗脱液约 0.8 mL,置 1 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

#### 2.2.3 阴性对照溶液的制备

按照醒脑静注射液



1. 莪术二酮;2. 吉马酮

图 1 混合对照品(A)、醒脑静注射液(B)及阴性样品(C)的 HPLC 处方量和制备工艺制备缺郁金的阴性样品,按照供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

### 2.3 线性关系考察

精密称定莪术二酮 1.98 mg,吉马酮对照品 0.58 mg,用甲醇溶解并稀释至 5 mL,精密吸取 20,50,100,250,500  $\mu\text{L}$  置 1 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取 10  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件测定。以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,结果莪术二酮在 0.079 2~1.98  $\mu\text{g}$ 、吉马酮在 0.023 2~0.58  $\mu\text{g}$  呈良好的线性关系。回归方程  $Y_{\text{莪术二酮}} = 6.759 \times 10^5 X - 2.154 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y_{\text{吉马酮}} = 2.769 \times 10^6 X - 5.563 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ )。

### 2.4 精密度试验

对同一供试品溶液按 2.1 项下色谱条件连续进样 5 次,测得峰面积,结果莪术二酮峰面积 RSD 0.44%;吉马酮峰面积 RSD 1.28%,说明仪器精密度良好。

### 2.5 稳定性试验

对同一供试品溶液按 2.1 项下色谱条件分别于制样后 0,1,2,4,6,8,48 h 测定峰面积,结果表明样品中莪术二酮 RSD 0.77%;吉马酮 RSD 1.58%,说明溶液在 48 h 内稳定。

### 2.6 重复性考察

取同一批号(120107)样品 6 份,分别按供试品项下方法处理后,按 2.1 项下含量测定,测得 12 批醒脑静注射液样品中莪术二酮的平均含量为 1.46%,RSD 2.3%;吉马酮的平均含量为

0.42%, RSD 2.0%, 结果表明重复性较好。

**2.7 加样回收率试验** 采用加样回收法进行试验,精密称取已知含量同一批号的样品 2.5 mL,分别精密加入莪术二酮(0.81 g·L<sup>-1</sup>)、吉马酮(0.228 g·L<sup>-1</sup>)对照品溶液 40,50,60 μL,共 9 份,按供试品溶液制备方法制备及上述色谱条件测定,结果平均回收率莪术二酮 99.47%, RSD 2.73%, 吉马酮为 100.2%, RSD 2.94%, 说明方法可靠,结果见表 1,2。

表 1 莪术二酮加样回收率试验

No.	取样量 /mL	样品中 含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	2.5	36.565 2	32.4	67.667 2	95.99		
2	2.5	36.565 2	32.4	69.821 3	102.6		
3	2.5	36.565 2	32.4	69.447 3	101.5		
4	2.5	36.565 2	40.5	76.514 3	98.64		
5	2.5	36.565 2	40.5	75.786 9	96.84	99.47	2.73
6	2.5	36.565 2	40.5	77.562 5	101.2		
7	2.5	36.565 2	48.6	86.639 5	103.0		
8	2.5	36.565 2	48.6	85.558 9	100.8		
9	2.5	36.565 2	48.6	86.184 6	102.1		

表 2 吉马酮加样回收率试验

No.	取样量 /mL	样品中 含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	2.5	10.561 8	9.12	19.330 9	96.15		
2	2.5	10.561 8	9.12	20.046 7	104.0		
3	2.5	10.561 8	9.12	19.473 2	97.71		
4	2.5	10.561 8	11.4	21.918 5	99.62		
5	2.5	10.561 8	11.4	21.565 3	96.52	100.2	2.94
6	2.5	10.561 8	11.4	22.018 8	100.5		
7	2.5	10.561 8	13.92	24.901 5	103.0		
8	2.5	10.561 8	13.92	24.747 5	101.9		
9	2.5	10.561 8	13.92	24.814 6	102.3		

**2.8 样品含量测定** 按上述方法测定 12 批样品,计算含量,结果见表 3。

### 3 讨论

样品净化曾选用 C<sub>8</sub> 和 C<sub>18</sub> 固相萃取小柱,丙酮、乙酸乙酯、甲醇分别洗脱,结果表明 C<sub>8</sub> 固相萃取小柱,甲醇 1 mL 即可将所测成分洗脱完全。

表 3 醒脑静注射液中 2 种成分含量测定

样品批号	莪术二酮	吉马酮
110602	1.31	0.24
100914	1.49	0.28
110725	1.78	0.26
120316	1.53	0.38
100716	0.87	0.14
101217	1.77	0.34
120405	0.67	0.23
110310	1.13	0.24
110211	1.53	0.22
120215	1.64	0.41
111206	2.10	0.42
120107	1.46	0.42

莪术二酮和吉马酮既是温郁金挥发油中的主要成分,也是其活性成分<sup>[12]</sup>。现代药理实验结果表明,莪术二酮具有抗血栓、抗炎、镇痛等作用<sup>[13]</sup>,吉马酮具有抗肿瘤活性<sup>[14]</sup>,这些活性与醒脑静注射液的功能主治相吻合,可以认为莪术二酮和吉马酮也是醒脑静注射液中的主要活性成分,因此选择它们作为检测指标用于醒脑静注射液的质量控制。

12 批样品测定结果显示,醒脑静注射液中莪术二酮的含量介于 0.67~2.10 g·L<sup>-1</sup>,吉马酮含量介于 0.14~0.42 g·L<sup>-1</sup>,含量差值最高达 3 倍左右,可能原因有二:①挥发性成分受产地、采收期、产地加工方式、储存时间等因素的影响较大,不同批次的醒脑静注射液所用的郁金药材的来源有较大差异(如从散在农户中购买所得),因此导致终产品质量差异较大;②醒脑静注射液的生产工艺为二次蒸馏,蒸馏温度、蒸馏时间,升温速度等都将影响到挥发油成分的组成和含量,蒸馏过程控制不严格导致不同批次醒脑静注射液的质量不一致。针对上述现象,笔者认为应采取下列措施:①建立郁金药材的 GAP 基地,从源头上保证药材质量的均一稳定;②采用过程控制,制定生产工艺的 SOP,制定中间体的质量标准,步步把关,保证成品质量的均一稳定。

### [参考文献]

- [1] 王璐,张红宇,刘勤,等. 在醒脑静注射液质量标准中建立“生物活性测定”项的研究[J]. 药物分析杂志, 2012,32(2):341.
- [2] 王妙菊,刘芳,赵荣生. 醒脑静注射液临床应用评价[J]. 陕西中医学院学报, 2009,32(5):84.

# 调经种玉丸定性定量研究

钱芳\*, 刘志辉, 陆超

(南京中医药大学附属医院, 南京 210029)

**[摘要]** **目的:** 制定调经种玉丸的定性定量控制方法。**方法:** 用薄层色谱法对制剂中川芎、丹参、续断、熟地进行定性鉴别; 用高效液相色谱法对制剂中阿魏酸进行含量测定。**结果:** 各薄层定性鉴别色谱中, 所鉴别的药材薄层色谱特征明显, 在与对照药材或对照品相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。阿魏酸在 4.68 ~ 62.34 ng 呈良好的线性关系, 相关系数为 1.000 0 ( $n=5$ ), 平均加样回收率为 99.89%, RSD 0.79%。**结论:** 上述定性定量方法可用于调经种玉丸的质量控制。

**[关键词]** 调经种玉丸; 薄层色谱; 高效液相色谱; 阿魏酸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0139-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013170139

## Qualitative and Quantitative Analysis on Tiaojing Zhongyu Pills

QIAN Fang\*, LIU Zhi-hui, LU Chao

(Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To find a better analytic method to determine Tiaojing Zhongyu Pills qualitatively and quantitatively. **Method:** Rhizoma Chuanxiong, Radix Salviae Miltiorrhizae, Radix Dipsali, Radix Rehmanniae Praeparata were identified by TLC. A method of HPLC to determine content of ferulic acid in the preparation was developed. **Result:** The studies on the quality control showed that the characteristics for identification by TLC were distinct. The quantification method had the linear range of 4.68-62.34 ng ( $r=1.0000$ ).

**[收稿日期]** 20120719(011)

**[通讯作者]** \* 钱芳, 副主任中药师, 从事中药制剂的生产和研究, Tel: 13611577537, E-mail: qfss1024@126.com

- [3] 陈蓉. 醒脑静联合还原型谷胱甘肽治疗肝性脑病[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):273.
- [4] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准 WS3-B-3353-98-2003[S]. 2003.
- [5] 方颖, 赵希贤, 赵鸣舒, 等. 气相色谱法同时测定醒脑静注射液中麝香酮、龙脑、樟脑、异龙脑的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):96.
- [6] 高文分, 袁文娟, 王梅. GC 法同时测定醒脑静注射液中麝香酮、龙脑的含量及有关物质[J]. 中国药师, 2011, 14(11):1607.
- [7] 陈琴华, 李鹏, 张卓. GC-MS-SIM 法测定醒脑静注射液中麝香酮的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(5):422.
- [8] 王立强, 王思玲, 苏德森. 醒脑静注射液质量控制研究[J]. 中成药, 2004, 26(4):289.
- [9] 公衍玲, 王宏波, 金宏. 郁金挥发油提取工艺及其抑菌活性研究[J]. 医药导报, 2009, 28(2):170.
- [10] 宋步昌, 鞠建峰. 莪术油的药理作用及临床应用[J]. 山东中医杂志, 2003, 22(9):555.
- [11] Woong Cho, Joo-Won Nam, Hyun-Jun Kang, et al. Zedoaronidol isolated from the rhizoma of Curcuma heyneana is involved in the inhibition of iNOS, COX-2 and pro-inflammatory cytokines via the downregulation of NF- $\kappa$ B pathway in LPS-stimulated murine macrophages[J]. Int immunopharmacol, 2009, 9(9):1049.
- [12] 李敏, 张娜, 林琪宇. HPLC 测定郁金类药材中的吉马酮和莪术二酮[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(1):105.
- [13] 吴丽敏, 徐志, 顾青青, 等. 莪术二酮的研究进展[J]. 药物生物技术, 2011, 18(4):369.
- [14] 刘竹, 韩凤娟, 吴效科, 等. 莪术油的抗肿瘤及治疗卵巢癌的研究概况[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(17):2209.

[责任编辑 顾雪竹]