

反相高效液相色谱法测定归辛冲剂阿魏酸的含量

程建峰,周瑾,刘梅,王炜华*,李澍韬* (第四军医大学唐都医院药剂科,陕西 西安 710038)

摘要:目的 用反相高效液相色谱法测定归辛冲剂中阿魏酸的含量。方法 以 Irregular C_{18} 为分析柱 (10 μ m, 4.6mm \times 250mm),流动相:5%醋酸溶液-甲醇(75:25),流速:1 mL \cdot min $^{-1}$,检测波长:320nm。结果 阿魏酸的浓度在 0.0135 ~ 0.4316 mg \cdot mL $^{-1}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.9999$)。加样回收率为 92.7% (RSD=1.7%)。结论 本方法简便、准确、可靠,可以作为归辛冲剂的质量控制指标之一。

关键词:反相高效液相色谱法;含量测定;阿魏酸

中图分类号:R284.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)05-0410-02

RP-HPLC Determination of Ferulate Acid in the Guixin Granule

CHENG Jian-feng, ZHOU Jin, LIU Mei, WANG Wei-hua, LI Shu-tao (Department of Pharmacy, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xian 710038, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine ferulate acid in the Guixin granule by RP-HPLC method. **METHODS** The liquid chromatography was carried out using Irregular C_{18} (10 μ m, 4.6mm \times 250mm), with detection wavelength at 320nm. The flow rate of mobile phase [5% acetic acid - methanol(75:25)] was 1 mL \cdot min $^{-1}$. **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 0.0135 ~ 0.4316 mg \cdot mL $^{-1}$ ($r=0.9999$, $n=5$). The average recoveries was 92.7% (RSD=1.7%). **CONCLUSION** The method established in this paper can be adopted for the quality of Guixin granule. This method is simple, accurate, reliable and reproducible.

KEY WORDS: RP-HPLC; determination; ferulate acid

归辛冲剂由当归、细辛、白芍、桂枝、甘草、通草等组成,具有温经散寒,养血通脉,行气止痛之功效。用于各种血管性头痛、红斑肢痛、冻疮等病的治疗及预防,也可用于心脑血管缺血性疾病。处方中当归、川芎、甘草所含阿魏酸为归辛冲剂主要作用的活性成分之一,也是多种制剂中的定量成分。本文参照文献^[1-3],采用 RP-HPLC法测定了归辛冲剂中阿魏酸的含量,作为归辛冲剂的质量控制指标之一。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 LC-10ATvp泵,检测器 SPD-10Avp,工作站 Class-10Avp(日本岛津);甲醇为色谱纯,醋酸乙酯、醋酸为分析纯;阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:773-9910),归辛冲剂(唐都医院自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Irregular C_{18} 为分析柱 (10 μ m, 4.6mm \times 250mm);流动相:5%醋酸溶液-甲醇(75:25);流速:1.0 mL \cdot min $^{-1}$;检测波长:320nm。

2.2 标准曲线的绘制

精密称取阿魏酸对照品约 4mg,用甲醇溶解并定容于 10mL量瓶中,配制成对照品溶液。再将对照品溶液依次稀释配制浓度为 0.4316, 0.2158, 0.1079, 0.0540, 0.0270, 0.0135 mg \cdot mL $^{-1}$ 的溶液,分别进样,进样量 20 μ L。以峰面积为纵坐标进样量为横坐标绘制工作曲线,回归方程 $C =$

$9.116 \times 10^4 A + 3.337 \times 10^5$, $r = 0.9999$, 线性范围 0.0135 ~ 0.4316 mg \cdot mL $^{-1}$ 。

2.3 样品溶液的制备

精密称取样品 2g,加 70mL蒸馏水溶解,用 5%碳酸钠溶液调 pH 到 10,煮沸 5min,冷却,离心 10min(6000 r/min)。倾出全部上清液至原烧杯中,用 1 mol/L 盐酸液调 pH 到 3,浓缩至约 30mL,全部移入 100mL的分液漏斗中,用水饱和的醋酸乙酯萃取 6次,每次 35mL,合并醋酸乙酯,水浴挥干溶剂。残渣用 10mL甲醇分 4次溶解,用 0.45 μ m 过滤于 10mL量瓶中,定容,得到样品溶液。

2.4 空白样品溶液的制备

按处方去掉当归、川芎、甘草配制成阴性样品,按方法“2.3”对样品进行处理,配制空白样品溶液。将上述对照品溶液、样品溶液、空白样品溶液按上述色谱条件测定,结果见图 1。

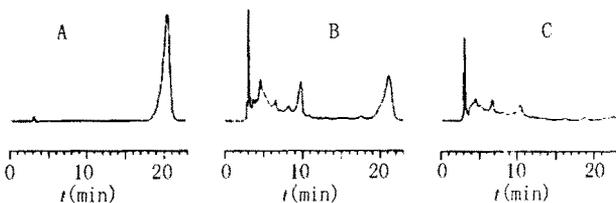


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

A. 对照品溶液 B. 样品溶液 C. 空白样品溶液

A. standard solution B. sample solution C. blank

* 陕西中医学院 89级实习生

2.5 回收率试验

分别称取样品 1.9317g、1.9529g、1.9267g 各加 0.1079 mg/mL 溶液 1 mL, 按照方法 2.3 对样品进行处理。精密测定三次的结果为: 平均回收率 92.7%, RSD = 1.7%。结果见表 1。

表 1 加样回收率结果

Tab 1 Results of recovery test

标准品加 入量 (mg)	样品中阿魏 酸含量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.1079	0.4318	0.5313	92.2		
0.1079	0.4783	0.5781	92.5	92.7	1.7
0.1079	0.4601	0.5610	93.5		

2.6 精密度试验

取“线性关系”项下浓度为 $0.1079 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 连续进样 5 次, 峰面积 RSD = 1.1%。

2.7 重复性实验

取同一种样品进行 5 次平行实验, 分别进行测定, 测得的含量为 $0.2750 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD = 3.68%。

2.8 稳定性实验

将阿魏酸对照品溶液在室温下放置 0, 3, 6, 12, 24h 时分别测定, 结果峰面积变化不大, 其 RSD 为 1.5%。

2.9 样品含量测定

精密称取不同批次的样品, 按照方法“2.3”处理, 按“2.1”项下色谱条件精密进样, 并以外标法计算样品中阿魏酸的含量。结果见表 2。

3 讨论

3.1 当归、甘草、川芎中都含有阿魏酸, 因这几味药产地、采收季节、加工炮制过程等一些因素进一步影响到归辛冲剂阿魏酸含量, 所以要控制好冲剂的质量, 原料药的质量控制也

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Determination results of samples ($n=3$)

批号	样品中阿魏酸平均含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD (%)
20030506	0.2276	
20030507	0.2547	5.75
20030508	0.2367	

是很重要, 且是必不可少的。

3.2 本实验对比了四种提取方法: 用甲醇从制剂中直接提取阿魏酸, 用醋酸乙酯从制剂中直接提取阿魏酸, 酸、碱处理后醋酸乙酯萃取法以及酸处理后乙醚萃取法, 结果相比之下, 酸、碱处理后醋酸乙酯萃取法的方法效果较满意, 杂质峰少, 萃取率高, 实验表明寻找一个合适的提取方法可以达到事半功倍的效果。

3.3 稳定性实验表明, 阿魏酸的分解转化与其浓度有关, 高浓度的对照品溶液在室温下很稳定, 基本不分解, 但浓度为 $0.0135 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的阿魏酸标准品溶液测定的结果表明, 放置时间较长阿魏酸分解转化就越多, 分解峰的面积不断增加, 虽然不影响实验的结果, 但应引起重视。

参考文献

- [1] 冯毅凡, 吴忠, 孟菁, 等. 乌鸡白凤丸中阿魏酸含量的测定 [J]. 中药材, 1999, 22(10): 532.
- [2] 冯毅, 叶圣养. 活血止痛胶囊中阿魏酸含量的测定 [J]. 中药材, 1999, 22(3): 144.
- [3] 金芳, 张蕾. 高效液相法测定龙克栓胶囊中阿魏酸的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 1996, 16(10): 456.

收稿日期: 2004-02-11