

高效液相色谱法测定颗粒剂定风痛中阿魏酸的含量

邵爱新 段天璇 张玉杰(北京中医药大学中药学院 北京 100029)

肖诗鹰(国家科委生命科学技术发展中心 北京 100080)

摘要 用HPLC法测定颗粒剂定风痛中阿魏酸的含量,方法简便、快速、分离度和重现性好。回收率为97.93%,RSD为2.08%。

关键词 高效液相色谱法 定风痛颗粒剂 阿魏酸

HPLC Determination of Ferulic Acid in Dingfengtong Granule

Shao Aixin, Duan Tianxuan, Zhang Yujie, Xiao Shiyong

(Beijing University of TCM, Beijing, 100029)

Abstract: A method for determination of ferulic acid in Dingfengtong granule was described. The method with a satisfactory resolution and reproducibility was simple and fast, and had a recovery of 97.93% with RSD 2.08%.

Key Words: HPLC method, Dingfengtong granule, ferulic acid

定风痛颗粒剂是由川芎、钩藤、天麻、元胡、赤芍等5味中药组成,具散风活血,行气止痛,开窍清肝之功效。用于治疗因肝经风热,血瘀气滞所致偏头痛等症。为严格控制该制剂的内在质量,以HPLC法对其君药川芎所含阿魏酸的含量进行了测定。方法简便、快速,分离度和回收率高,为本制剂质控提供依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:waters公司,510泵,u6k进样阀,490可变波长检测器,745型积分仪,SGE公司25 μ l可调进样器,灵敏度0.25A UFS。乙腈为色谱纯试剂;阿魏酸对照品购自中国药品生物制品检定所,色谱归一化法测得含量为99.4%;其它试剂均为分析纯。实验用定风痛颗粒剂样品,由本院中药制剂研究室提供。

2 色谱条件

色谱柱:YWG十八烷基键合相,10 μ m,4.0 \times 250mm。流动相:甲醇-乙腈-1.5%冰醋酸(6:14:80);检测波长:330nm;柱温:室温;流速:1.0ml/min。

3 实验方法与结果^[1,2]

3.1 对照品溶液的配制 精密称取阿魏酸对照品适量,加1%冰醋酸甲醇溶液配制成0.122mg/ml的溶液,作为对照品溶液。

3.2 线性关系的考察 精密吸取对照品溶液2.5、4.0、5.0、7.5、10.0 μ l,分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积积分为纵坐标,阿魏酸进样量(μ g)为横坐标,加进零点回归,绘制标准曲线,计算,得回归方程: $Y=304.07+44022.57x$, $r=0.9998$ 。该标准曲线通过原点,阿魏酸的量在0.305~1.22 μ g范围内具有良好的线性关系。

3.3 供试品溶液的制备及测定 精密称取本品细粉约1.5g,置三角瓶中,精密加20.0ml 5%甲酸的甲醇溶液,超声振荡30min,滤过,用10ml上述溶液洗涤残渣,合并,置水浴减压回收溶剂至干;以蒸馏水溶解并完全转移至分液漏斗,用醋酸乙酯萃取6次(20ml \times 2,10ml \times 4),合并,再以5%碳酸氢钠萃取6次(20ml \times 2,10ml \times 4),合并萃取液,置水浴减压回收至近干,以1%冰醋酸甲醇溶液溶解并完全转移至5ml容量瓶中,

稀释至刻度,摇匀,以 0.45 μ 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液,分别吸取对照品溶液 5 μ l 与供试品溶液 25 μ l,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积。

3.4 仪器精密度试验 精密吸取同份样品供试液 25 μ l,重复进样 5 次,阿魏酸峰面积积

分值的相对标准偏差为 2.3%。

3.5 空白对照试验 取不含川芎的定风痛颗粒剂阴性样品,按上述供试液制备项下操作、测定。结果表明,在阿魏酸出峰位置上无其它干扰峰。见图 1。

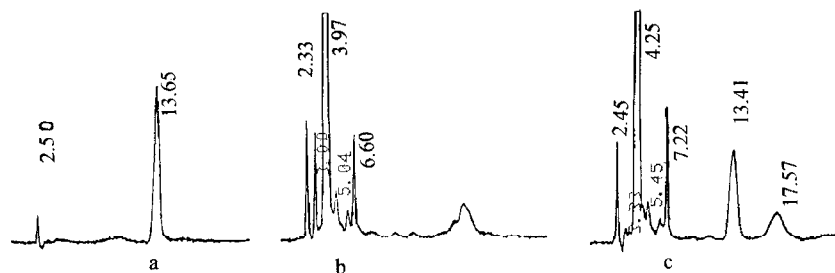


图 1 HPLC 图谱

a. 阿魏酸对照品 b. 缺川芎阴性对照 c. 样品

3.6 加样回收率试验 采用 1:1 加样回收法,精密称取已知含量的样品 5 份(约 0.8g),分别精密加入阿魏酸对照品溶液(0.122mg/ml)0.5ml,按样品测定项下操作及测定,并计算回收率,结果见表 1。

表 1 阿魏酸回收率测定结果(n=3,mg/g)

样品中含量	添加量	测得量	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.059	0.061	0.1190	98.36		
0.061	0.061	0.1195	95.90		
0.059	0.061	0.1205	100.82	97.93	2.08
0.058	0.061	0.1181	98.52		
0.059	0.061	0.1176	96.07		

表 2 样品测定结果(n=3)

批号	阿魏酸的含量(mg/100g)	RSD(%)
961106	7.17	1.61
961114	7.27	3.46
961122	7.27	1.38

3.7 重复性试验 取同一批号样品,重复测定 5 次,精密称定,按供试品溶液制备项下操作,测定,并计算每份样品中阿魏酸的含量,分别为 7.12,7.25,7.34,7.31,7.21(mg/g) 计算相对标准差为 1.2%。

3.8 样品测定 按上法测定 3 批样品中阿魏酸的含量。结果见表 2。

4 讨论

4.1 阿魏酸的最大吸收在 323nm 左右,所以选择 UV 330nm 为检测波长。经过实验确证其分离度好,故采用此检测波长。见图 2。

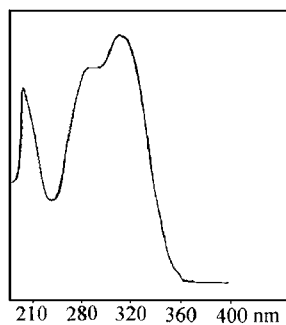


图 2 阿魏酸紫外吸收光谱

4.2 关于醋酸乙酯及 5%碳酸氢钠萃取次数的确定,曾做过以醋酸乙酯振摇萃取(20ml \times 2,10ml \times 4),从第 3 次后每份萃取液单独蒸干,残渣以少量 1%冰醋酸甲醇溶液溶解,进样 25 μ l,试验结果表明,从第 4 次后萃取液中几乎检不到阿魏酸,故醋酸乙酯萃取次数定为 6 次。5%碳酸氢钠萃取次数同法进行试验,从第 5 次检不到阿魏酸,所以碳酸氢钠萃取也定为 6 次。

4.3 超声时间的确定 精密称定样品进行 10、20、30、40min 的超声处理,按供试品溶液

项下操作、测定、计算。结果超声 30min 含量高,以后趋于稳定。所以,本试验确定超声处理 30min。

参考文献

1 李国强,刘志红,候家麟,等. 薄层扫描法测定归

脾丸(浓缩丸)中阿魏酸含量. 中成药,1991,13(3):15

2 王宝琴主编. 中成药质量标准与标准物研究. 北京:中国医药科技出版社,1994. 324

(收稿:1997-01-17)