

# 高效液相色谱法测定痹通药酒中阿魏酸的含量

张翠英<sup>1\*</sup>, 李振国<sup>1</sup>, 马晓峰<sup>2</sup>, 徐金玲<sup>1</sup>, 刘乃强<sup>1</sup>

(1. 河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450003; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的: 建立痹通药酒中阿魏酸的含量测定方法。方法: C<sub>18</sub>柱, 以乙腈-0.1%磷酸(20:80)为流动相, 检测波长为316 nm。结果: 阿魏酸的线性范围为4.072~101.8 μg/mL( $r = 0.99996$ ), 平均回收率为99.31%, RSD为3.66% ( $n = 6$ )。结论: 该方法操作简便准确, 重复性好, 能有效控制痹通药酒的质量。

[关键词] 痹通药酒; 阿魏酸; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)06-0009-02

## Determination of Ferulic Acid in Bitong Yaojiu by HPLC

ZHANG Cui-ying<sup>1\*</sup>, LI Zhen-guo<sup>1</sup>, MA Xiaofeng<sup>2</sup>, XU Jin-ling<sup>1</sup>, LIU Nai-qiang<sup>1</sup>

(1. Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003;

2. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To develop and HPLC method for determination of ferulic acid in Bitong Yaojiu. **Methods:** Analysis was carried out on a C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column eluted with, acetonitrile-0.1% phosphoric acid buffer (20:80) as the mobile phase with UV detection at 316 nm. **Results:** The linear relationship of ferulic acid was in the range of 4.072~101.8 μg/mL, the recovery was 99.31% (RSD 3.66%,  $n = 6$ ). **Conclusion:** This method is simple, accurate and reproducible.

[Key words] Bitong Yaojiu; ferulic acid; HPLC

痹通药酒收载于中药成方制剂第十九册的品种, 由制草乌、当归等四味药组成, 具有温经止痛, 活血祛风的作用, 主要用于风湿麻木, 腰背冷痛, 风湿、

类风湿关节炎, 坐骨神经痛, 骨质增生等症<sup>[1]</sup>。阿魏酸是当归中的有效成分, 具有活血化瘀等作用, 故将阿魏酸作为本制剂的含量测定指标成分。文献报道测定阿魏酸的方法有薄层扫描法<sup>[2]</sup>、高效液相色谱法<sup>[3]</sup>、毛细管电泳法<sup>[4]</sup>等, 本文采用高效液相色谱法测定痹通药酒中阿魏酸的含量, 本法操作简单, 数据可靠。

[收稿日期] 2006-11-30

[通讯作者] \* 张翠英, Tel: (0371) 63388295; E-mail: zhangcy727@yahoo.com.cn

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-2010C 高效液相色谱仪, METTLER AX 205DR 电子天平(瑞士);乙腈为色谱纯(Merck,德国),磷酸为分析纯,水为高纯水(经 0.45 μm 水系滤膜滤过)。

对照品阿魏酸(编号 0773-9910,含量测定用)由中国药品生物制品检定所提供。

样品(批号 041103, 060403, 060405)由河南省汝州市四知堂制药厂提供。

## 2 实验结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Diamonsil (Dikma Technologies) C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm, Ser. No. 8014128);流动相:乙腈-0.1%磷酸(20:80);检测波长:316 nm;柱温:30 °C;流速 1.0 mL/min。

**2.2 对照品贮备溶液的制备** 精密称取阿魏酸对照品 5 mg,置 25 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,得到对照品贮备溶液(200 μg/mL)。

**2.3 供试品溶液的制备方法** 精密吸取样品 25 mL,置蒸发皿中,水浴挥干,加水 10 mL,分次转移至分液漏斗中,加乙醚萃取 5 次,每次 20 mL,合并乙醚液,挥干,残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 棕色量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.4 阴性对照试验** 取按处方比例除去当归的其它药材适量,依照痹通药酒的制备工艺和供试品溶液的制备方法得到缺当归的空白对照溶液,作为阴性对照溶液。按照上述色谱条件进行测定,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,有相同保留时间的色谱峰,而阴性对照色谱上在此保留时间无干扰。

**2.5 线性关系考察** 分别精密吸取对照品贮备溶液 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得各对照品溶液。各对照品溶液进样 10 μL,以对照品溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归,得回归方程:  $Y = 2.96 \times 10^4 + 4.65 \times 10^7 X$ ,  $r = 0.99996$

结果表明,阿魏酸在 4.072~101.8 μg/mL 范围内线性关系良好。

**2.6 精密度试验** 精密吸取痹通药酒(批号 060405) 25 mL,照供试品溶液制备方法制得供试品溶液 1 份,连续进样 6 次,每次 10 μL,根据 5 次的峰面积,计算阿魏酸的 RSD=0.37% ( $n=6$ )。

**2.7 稳定性实验** 取上述精密度试验的供试品溶液,分别在 0, 1, 5, 6, 7 h 测定,根据峰面积计算阿魏

酸的 RSD=1.08% ( $n=5$ ),结果表明供试品溶液中阿魏酸在 7 h 内基本稳定。

**2.8 重复性试验** 精密吸取同一批号痹通药酒(批号 060405) 6 份,每份 25 mL,照[2.3 供试品溶液制备方法]制得 6 份供试品溶液,进样 10 μL,根据峰面积,计算阿魏酸的平均含量为 7.24 μg/mL, RSD=2.00% ( $n=6$ )。

**2.9 加样回收率试验** 精密吸取同一批号的痹通药酒(批号 060405) 6 份,10 mL,分别加入对照品,照[2.3 供试品溶液的制备方法]得到 6 份加样供试品溶液,分别进样 10 μL,根据外标法计算回收率、平均加样回收率和 RSD(%),其中阿魏酸的平均回收率为 99.31%, RSD=3.66% ( $n=6$ )。

表 1 痹通药酒中阿魏酸的加样回收率结果( $n=6$ )

实测量 (mg)	对照品量 (mg)	样品含量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.1437	0.0726	0.0698	101.86		
0.1437	0.0726	0.0698	101.86		
0.1402	0.0726	0.0698	96.85	99.31	3.66
0.1451	0.0726	0.0698	103.87		
0.1396	0.0726	0.0698	95.99		
0.1392	0.0726	0.0698	95.42		

**2.10 样品测定** 精密吸取各批号痹通药酒 25 mL,照[2.3 供试品溶液的制备方法]得到各供试品溶液,照[2.1 色谱条件]进样 10 μL,根据峰面积用外标法计算各样品中阿魏酸的含量。结果三批阿魏酸含量分别为 4.47, 7.17, 7.22 μg/mL。

## 3 讨论

由于本制剂辅料有赤砂糖,提取时要尽可能除去水溶性杂质,提取方法曾采用调溶液 pH 值萃取、过大孔吸附树脂除杂等方法对提取方法进行的考察,确定了本文的提取除杂方法,提取效率最高,回收率好,并且操作简单。

阿魏酸是当归的活性成分,其性质不稳定,遇光受热或在溶液中久贮均易分解。阿魏酸的性质虽然不稳定,但严格控制测定条件,可以保证测定结果的准确性。我们考察了阿魏酸对照品 70% 甲醇溶液在棕色容量瓶中或避光保存放置 2 周,基本稳定。

### [参考文献]

- [1] 卫生部药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂[S]. 第十九册, 1998. 239.
- [2] 张蕾,王勤国. 双波长薄层扫描法测定归芍酊中阿魏酸的含量[J]. 中成药, 1997, 19(2): 15-16.
- [3] 张娴,彭国平. HPLC 法测定活血止痛胶囊中阿魏酸的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2004, 20(1): 58-59.
- [4] 陈勇,杨新,韩凤梅,等. 川芎中川芎嗪和阿魏酸含量的毛细管电泳测定[J]. 药学报, 1999, 34(9): 699-701.