

# 高效液相色谱法测定 活血止痛软胶囊中阿魏酸的含量

田 军\*, 李刘辉, 刘 永  
(安徽省药物研究所, 安徽 合肥 230022)

[摘要] 目的: 建立活血止痛软胶囊中阿魏酸的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以 C<sub>18</sub> 色谱柱(5 $\mu$ m, 4.6mm  $\times$  200mm); 乙腈: 甲醇: 1% 醋酸溶液(1: 1: 5) 为流动相; 流速为 1.0mL/min, 检测波长为 313nm。结果: 阿魏酸在 0.025 $\mu$ g~ 0.8 $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系,  $r=0.9999$ 。平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.0%。结论: 该方法简单、灵敏度高, 可用于活血止痛软胶囊中阿魏酸的含量测定。

[关键词] 活血止痛软胶囊; 阿魏酸; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)11-0015-03

## Content Determination of Ferulic Acid in Huoxuezhitong Soft Capsule by HPLC

TIAN Jun\*, LI Liu-hui, LIU Yong  
(Anhui Institute of Materia Medica, Hefei 230022, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of ferulic acid in Huoxuezhitong soft capsule. **Method:** The CenturySIL C<sub>18</sub> BDS column(200mm  $\times$  4.6mm) was used with acetonitrile-methanol-1% acetic acid (1: 1: 5) as a mobile phase. The flow rate was 1.0mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>. The detecting wavelength was 313nm. **Result:** The linear range of ferulic acid was 0.025  $\mu$ g~ 0.8  $\mu$ g,  $r=0.9999$ . The average recovery was 99.5% and RSD was 1.0%. **Conclusion:** The method is simple rapid and accurate.

[Key words] Huoxuezhitong soft capsule; ferulic acid; HPLC; Quantitative Determination

活血止痛软胶囊由当归、三七、乳香(制)、冰片、土鳖虫、自然铜(煅)等组成。具有活血散瘀, 消肿止痛之功效。用于跌打损伤, 瘀血肿痛。为有效地控制产品质量, 根据方中成分, 选择其主药当归中的阿魏酸作为含量控制的指标, 采用高效液相色谱法测定制剂中的阿魏酸, 方法可靠, 灵敏, 快速。

### 1 仪器与试剂

LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD 紫外检测器(日本岛津), N-2000 色谱工作站(浙江大学智能工程研

究所)。超声提取器(AS3120B)。

阿魏酸对照品, 购于中国药品生物制品检定所(含量测定用, 批号 0736-200014)。

乙腈、甲醇为色谱纯; 水为亚沸重蒸水; 所用其它试剂均为分析纯。活血止痛软胶囊, 自制, 批号 051020、051022、051025。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** CenturySIL C<sub>18</sub> BDS 色谱柱(200mm  $\times$  4.6mm, 5 $\mu$ m), 流动相<sup>[1]</sup>: 乙腈-甲醇-1% 醋酸溶液(1: 1: 5); 检测波长: 313nm; 流速: 1mL/min; 进样量 10 $\mu$ L。在上述色谱条件下阿魏酸与其他成分分离良好, 且空白溶液无干扰, 见图 1、图 2 和图 3。

**2.2 对照品溶液的制备** 取阿魏酸对照品适量, 精

[收稿日期] 2006-04-14

[通讯作者] \* 田军, Tel: (0551) 3641694, E-mail: tianjun222@hotmail.com

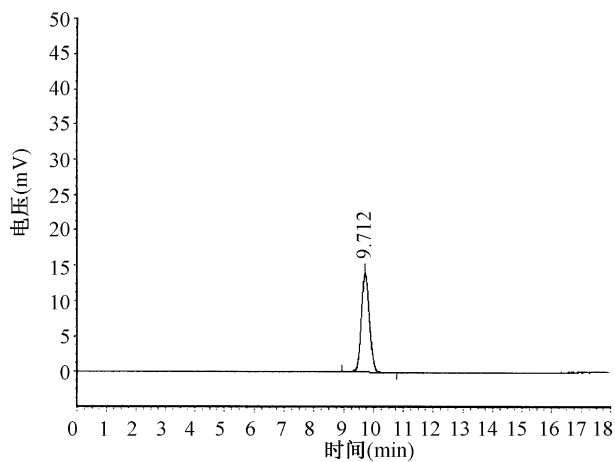


图 1 阿魏酸对照品的 HPLC 图

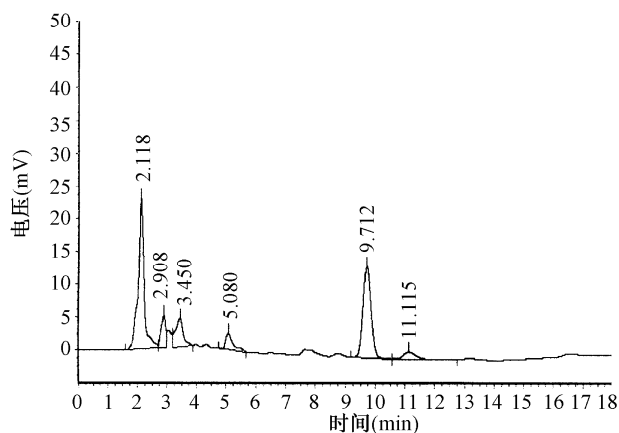


图 2 活血止痛软胶囊供试品 HPLC 图

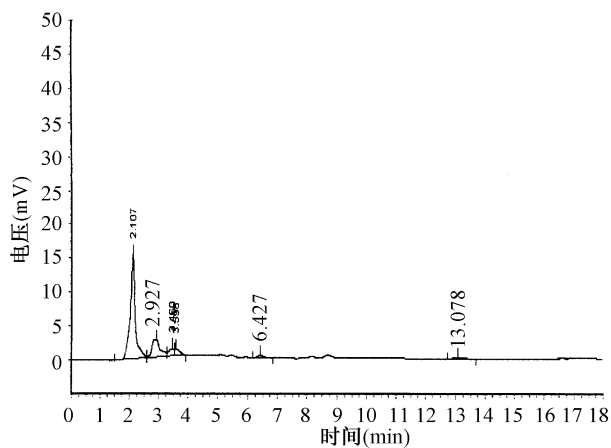


图 3 空白样品 HPLC 图

密称定, 置棕色量瓶中, 加甲醇制成每 1mL 含阿魏酸 10 $\mu$ g 的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备**<sup>[2]</sup> 取软胶囊 20 粒的内容物, 混匀, 取约 5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-甲酸(95:5) 25mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 30min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇-甲酸(95:5) 补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 空白溶液的制备** 按处方组成, 取除当归外的其余药材, 按制备工艺要求制成不含当归的空白对照样品, 按供试品制备项下的方法制备空白溶液。

**2.5 空白试验** 分别吸取空白溶液与供试品 10 $\mu$ L 注入液相色谱仪, 结果表明, 空白溶液与供试品比较, 相应位置未出峰, 认为无干扰。

**2.6 线性关系考察** 精密称量阿魏酸对照品 5.0mg 置 50mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述对照品溶液 0.25, 0.5, 1, 2, 4 及 8mL, 置棕色 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述各溶液 10 $\mu$ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积积分值 (A) 为纵坐标, 阿魏酸进样量 (C) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程  $A = 3.000 \times 10^6 C + 3.836 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$ , 表明阿魏酸在 0.025 $\mu$ g~0.8 $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系。

**2.7 精密度试验** 精密吸取阿魏酸对照品溶液 10 $\mu$ L, 连续进样 5 次, 测得峰面积平均值为 263 582, RSD 值为 1.1%。

**2.8 重复性试验** 按上述供试品溶液制备方法, 称取同批号样品(批号 051020) 5 份, 分别进行测定。得阿魏酸的平均含量为 44.1 $\mu$ g/粒, RSD 为 1.4%。

**2.9 供试品稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号 051020), 分别于配制后 0, 2, 4, 8h 依法测定, 峰面积平均值为 264 909, RSD 为 1.7%, 表明样品溶液在 8h 内稳定。

**2.10 回收率试验** 采取加样回收法(按 1:1 加入), 精密称取已知含量的同一批号样品(051020) 2.5g 共 5 份, 分别精密加入浓度为 0.1mg/mL 的阿魏酸对照品溶液 1.2mL, 加甲醇-甲酸(95:5) 20mL, 混合均匀, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 10 $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 同法测定。计算平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.0% ( $n = 5$ ), 结果见表 1。

表 1 阿魏酸回收率试验结果

序号	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.130 1	0.12	0.247 8	98.1		
2	0.136 2	0.12	0.256 8	100.5		
3	0.133 7	0.12	0.252 6	99.1	99.5	1.0
4	0.143 9	0.12	0.264 4	100.4		
5	0.142 2	0.12	0.261 3	99.2		

**2.11 样品测定** 取 3 个批号(051020, 051022,

051025) 的样品, 每个批号 3 个样本, 按上述供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 另取阿魏酸对照品适量, 精密称定, 置棕色量瓶中, 加甲醇制成每 1mL 含阿魏酸 10 $\mu$ g 的溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定, 计算含量。结果 3 个批号样品的阿魏酸平均含量分别是 44. 1, 42. 6, 45. 4 $\mu$ g/粒。

### 3 讨论

文献报道<sup>[6]</sup>阿魏酸不稳定, 见光易分解, 对照品溶液及供试品溶液应闭光置棕色瓶保存, 否则易发生分解而使含量降低。2005 版药典一部所收载活血止痛散中阿魏酸测定方法, 操作复杂, 步骤较多, 笔者参考文献方法<sup>[3-5]</sup>, 改用甲醇-甲酸(95: 5)溶液超声提取, 大大减少了操作时间, 方法简便, 操作简单, 空白溶液无干扰, 流动相为乙腈-甲醇-1%醋酸溶液(1: 1: 5); 时可使制剂中阿魏酸达到基线分离。采用本方法能够测定活血止痛软胶囊中阿魏酸的含量,

可作为控制产品质量的方法。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 545-546.
- [2] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 412-413.
- [3] 谢瑛, 杨小妹. HPLC 测定活血止痛散中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(1): 25-27.
- [4] 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(自然科学版), 2004, 20(1): 58-59.
- [5] 许江, 张庆, 俞小陶. HPLC 法测定活血止痛胶囊中阿魏酸的含量[J]. 广东药学院学报, 2000, 16(4): 309-310.
- [6] 潘瑞乐, 陈迪华, 沈连刚, 等. 高效液相色谱法测定川茶调丸中阿魏酸的含量[J]. 现代中医药, 2004, 10(1): 60-62.