

高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量

唐力英, 王祝举*, 赫 炎, 张启伟, 梁国刚
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立当归中阿魏酸的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法, Diamonsil C₁₈ 柱(250mm × 4.6mm, 5μm), 以甲醇-水-冰醋酸(32: 68: 0.5) 为流动相, 流速为 1mL/min, 检测波长为 320nm。结果: 阿魏酸在 0.0618~ 0.3708μg 范围内, 线性关系良好($r = 0.9999$)。平均回收率为 104.1% ($n = 5$), RSD 为 2.0%。结论: 本法灵敏、准确, 简便易行, 重复性好, 可用于中药当归药材及饮片的质量控制。

[关键词] 当归; 阿魏酸; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)02-0014-02

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的根, 是中医常用中药之一, 有活血化瘀、养血调经、镇静镇痛等功效^[1]。当归的主要成分阿魏酸具有抗氧化和清除自由基作用, 能有效抑制血小板聚集和血栓形成, 用于治疗血管栓塞性脉管炎, 急性脑血栓和偏头痛及动脉粥样硬化等症^[2]。为了对当归进行有效的质量控制, 本文以当归药材为对象, 建立了高效液相色谱法测定其中阿魏酸的含量方法, 并对不同产地的当归进行了含量测定, 为制定当归的质量标准提供参考依据。

1 仪器与试剂

美国 Waters 公司 600-2487 高效液相色谱仪, Millennium³² 数据处理系统; 2487 紫外检测器。CX-250 型超声波清洗仪器(北京医疗设备二厂); SARTIOMS 2004MP 型十万分之一电子分析天平。

阿魏酸对照品: 中国药品生物制品检定所(批号: 07739910); 甲醇、冰乙酸均为优级醇(北京化工厂生产), 水为重蒸馏高纯水。

当归药材 2003 年购于安徽亳州药材市场, 产地为甘肃岷县、甘肃漳县和甘肃宕昌县。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈, 250mm × 4.6mm, 5μm; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(32: 68: 0.5); 流速: 1mL·min⁻¹; 柱温: 25℃; 检测波长: 320nm。在该色谱条件下, 样品中阿魏酸峰与其它峰能够达到

基线分离, 保留时间在 28min 左右, 对照品与样品的色谱图见图 1。

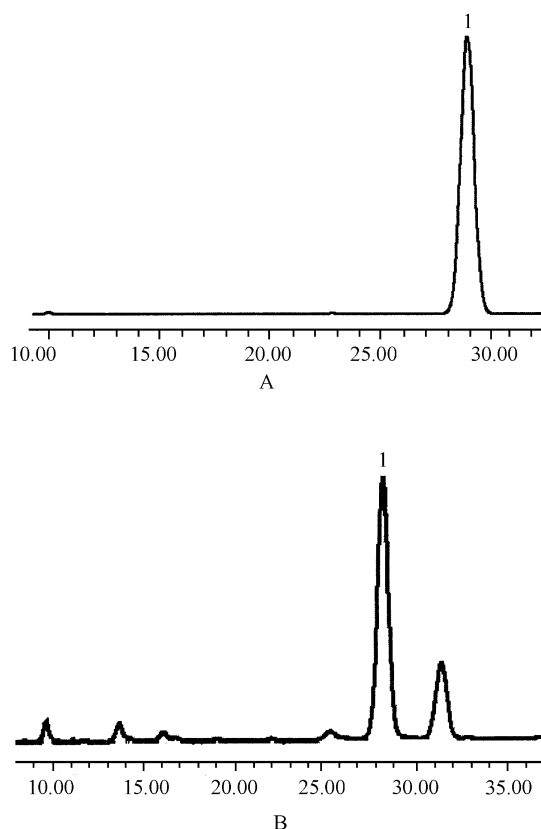


图 1 对照品及样品色谱图

A 对照品 B 样品 1 阿魏酸

2.2 阿魏酸稳定性考察 精密称取 1.04mg 阿魏酸对照品, 用甲醇-冰醋酸(100: 5) 溶液溶解, 定容于 50mL 容量瓶中, 浓度为 0.0208mg·mL⁻¹。以上操作均在室内正常不避光情况下进行, 分别在 0、1、2、4h 时精密吸取 10μL, 进样, 在上述色谱条件下测定, 结果表明阿魏酸峰面积随时间明显下降, 在 4h 内就下

[收稿日期] 2005-03-18

[通讯作者] 王祝举, Tel: (010) 64014411-2975; E-mail: wangzhuju

@sina.com

降 6.0%, 同时分解产物(2) 峰面积也不断增大, 见表 1。

在避光条件下重复上述操作, 精密吸取对照溶液 10 μ L, 分别在 0.1 2.4 8.12 24 48h 时进样, 在上述色谱条件下测定峰面积, 其 RSD 值为 1.40%。表明阿魏酸在避光条件下 48h 内稳定。因此整个试验过程需要避光操作。

表 1 阿魏酸稳定性实验结果

时间(h)	阿魏酸峰面积	分解物峰面积	杂质峰百分比(%)
0h	1065649	-	-
1h	1011380	8935	0.8
2h	981575	29824	2.9
4h	939724	59858	6.0

2.3 线性关系考察 精密称取 1.03mg 阿魏酸对照品, 以甲醇-冰醋酸(100:5) 为溶剂溶解, 定容于 50mL 棕色容量瓶中, 浓度为 0.0206mg \cdot mL⁻¹, 避光保存, 备用。

分别精密吸取对照溶液 3.6 9.12 15.18 μ L 进样, 在所选色谱条件下测定。以进样量(μ g) 为横坐标(X), 以测得峰面积为纵坐标(Y) 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = 4104796X - 18314$, $r = 0.9999$, 结果表明进样量在 0.0618~ 0.3708 μ g 范围内, 线性关系良好。

2.4 精密度考察 吸取对照溶液 10 μ L, 连续进样 5 次, 在所选色谱条件下进样, 测得峰面积, 其 RSD 为 1.03%。

2.5 供试品溶液制备 称取当归粉末(过 60 目筛) 0.5g, 精密称定, 准确加入甲醇-冰醋酸(100:5) 溶液 25mL, 称重, 超声 50min, 取出, 放至室温, 称重, 补足挥发的溶剂的重量, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液过微孔滤膜, 制得供试品溶液, 备用。全部制备过程在避光条件下操作。

2.6 重复性考察 同一样品称取 5 份, 按“供试品溶液制备”项下操作, 精密吸取 10 μ L, 进样, 测定峰面积值, 计算阿魏酸含量, 其 RSD 为 1.27%, 结果表明重复性良好。

2.7 回收率考察 称取已知含量(0.066%) 的同一样品 5 份, 每份 0.25g, 精密称定后, 每份加入浓度为 0.0076mg \cdot mL⁻¹ 对照品溶液 25mL, 按“供试品溶液制

备”项下操作, 精密吸取 10 μ L, 进样, 计算回收率, 结果见表 2。

表 2 加样回收率测定结果

样品	样品重 (mg)	样品含量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	250	0.165	0.358	101.3		
2	252	0.166	0.361	102.6		
3	251	0.166	0.365	105.0	104.1	2.0
4	252	0.166	0.366	105.0		
5	251	0.165	0.367	106.4		

2.8 样品测定 按“供试品溶液制备”项下操作, 制备样品溶液, 精密吸取 10 μ L, 进样, 在所选色谱条件下测定, 计算含量, 结果见表 3。

表 3 当归样品测定结果(n=3)

样品	产地	阿魏酸(%)	RSD(%)
1	甘肃岷县	0.066	1.12
2	甘肃漳县	0.041	1.36
3	甘肃宕昌县	0.059	0.98

3 讨论

建立了高效液相色谱法测定当归样品中阿魏酸含量的方法, 方法学考察表明, 该法准确、灵敏、简单、快速, 可作为当归中药材及饮片质量控制的方法之一。用该法对 3 个不同产地的当归药材中阿魏酸含量进行了测定, 结果表明岷县产当归药材中阿魏酸含量相对较高。对当归样品超声提取时间进行了考察, 比较了 10.20.30.50.60min 提取结果, 从阿魏酸含量可以看出提取 50min 即可提取完全。阿魏酸性不稳定, 见光极易分解, 在对照品和样品的制备过程中都必须要注意避光操作及保存。样品色谱峰中保留时间为 31min 的峰, 经过比对, 可能与阿魏酸分解产物为同一物质。但是该物质是当归药材内原生二次代谢产物还是放置过程中见光分解产生, 仍需进一步探讨。

[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, 2000. 101.
[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 5, 上海: 上海科学技术出版社, 1999. 893.