

高效液相色谱法测定通脉活络丸中阿魏酸的含量研究

韩建伟^{1*}, 高华宏², 乔 明¹

(1. 湖北中医学院药学院, 武汉 430061; 2. 重庆市医药工业研究院, 重庆 400061)

[摘要] 目的: 探索 RP-HPLC 法测定通脉活络丸中阿魏酸含量的方法。方法: 采用 Agilent Zorbax SB-C18(4.6 × 250mm 5 μ m) 色谱柱; 流动相: 甲醇-乙腈-磷酸-三乙胺-水(0.01: 4.99: 0.095: 0.095: 94.81); 流速: 0.8mL·min⁻¹; 检测波长: 324nm。结果: 阿魏酸含量的浓度线性范围为 0.02448 μ g~ 0.06120 μ g($r = 0.9993$)。平均回收率为 97.85%, $RSD = 2.07\%$ 。结论: 该方法简便、结果准确, 可用于通脉活络丸中阿魏酸的含量测定。

[关键词] 通脉活络丸; 阿魏酸; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)09-0022-02

通脉活络丸是我院研制的治疗缺血性中风的中药浓缩丸制剂, 疗效确切。该制剂中含有黄芪、当归等药材, 本文采用 RP-HPLC 法对该制剂中有效成分之一阿魏酸的含量测定进行了探索研究, 有关研究方法论述如下。

1 仪器与试剂

Agilent1100 系列高效液相色谱仪(四元泵, 手动进样器, 紫外检测器, 柱温箱, 化学工作站, 美国); 阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0773-9910); 通脉活络丸(本院自制); 化学试剂均为国产分析纯, 水为重蒸馏水。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈(4.6mm × 250mm, 5 μ m) 柱, 流动相: 甲醇-乙腈-磷酸-三乙胺-水(0.01: 4.99: 0.095: 0.095: 94.81); 流速: 0.8mL·min⁻¹, 柱温: 25℃; 检测波长: 324nm。

2.2 溶液制备 对照品溶液制备: 取经减压干燥 48h 的阿魏酸对照品 1.53mg, 先用甲酸: 甲醇(5: 95) 5mL 溶解, 再以 5% 甲酸水溶液补足定容于 50mL 棕色量瓶中, 摇匀, 再精密吸取 1mL, 用 5% 甲酸水溶液稀释定容于 10mL 棕色量瓶中, 摇匀, 制成每 mL 含 3.06 μ g 的阿魏酸对照品溶液。

供试品溶液: 取本品适量, 粉碎过 80 目筛, 称取粉末约 0.25g, 精密称定, 置 25mL 棕色量瓶中, 加入甲酸: 甲醇(5: 95) 至刻度, 超声处理(功率 300W, 频率 50kHz) 30min, 放冷, 用甲酸: 甲醇(5: 95) 补足至 25mL。取适量提取液, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 即得, 于 4℃ 保存。

空白对照品: 称取除去当归的其余药材制成的丸剂, 按供试品制法制备, 即得。

2.3 方法专属性 分别吸取阿魏酸对照品溶液 15 μ L、供试品溶液与空白对照溶液各 10 μ L, 按上述色谱条件进样检测, 阿魏酸对照品、供试品在约 9min 呈现阿魏酸特征吸收峰, 空白对照品无该吸收峰。

2.4 线性关系考查 精密吸取阿魏酸对照品溶液 8, 10, 12, 16, 20 μ L 分别进样, 按上述色谱条件测定, 以进样量为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标作图, 得一不通过原点的直线, 回归方程: $Y = 3385.45X - 1.81$, $r = 0.9993$ 。

2.5 精密度考察 精密吸取阿魏酸对照品溶液 10 μ L, 重复进样 5 次, 记录峰面积积分值, $RSD = 0.80\%$ 。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液(于 4℃ 保存) 分别于 0, 2, 4, 8, 12h 进样, 按上述条件测定, 阿魏酸峰面积积分值 $RSD = 0.81\%$; 精密吸取阿魏酸对照品溶液(30.6 μ g/mL, 于 4℃ 保存) 10 μ L, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48h 进样, 阿魏酸峰面积积分值 $RSD = 0.73\%$ 。表明供试品在甲酸: 甲醇(5: 95) 为溶

[收稿日期] 2005-12-27

[通讯作者] * 韩建伟, Tel: (027) 62677089; E-mail: hjwyy228@163.com

媒的条件下, 4℃时, 至少 12h 内稳定。阿魏酸对照品在同条件下, 至少 48h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密称取同一批号样品粉末 5 份, 按供试品制备方法制成供试品, 分别精密吸取 10 μ L, 按上述条件测定, 阿魏酸含量分别为 0.02772%, 0.02882%, 0.02836%, 0.02834%, 0.02869%, 平均含量 0.02839%, $RSD = 1.50\%$ 。

2.8 回收率测定 取已知含量的同一批号样品粉末 5 份, 精密称定, 分别加入适量的阿魏酸对照品, 按供试品制法制备, 按上述色谱条件进样检测, 结果见下表。

加样回收率试验结果

取样量 (g)	样品中含量 (μ g)	加入量 (μ g)	实测值 (μ g)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.2480	70.41	79.56	146.82	96.04		
0.2510	71.26	79.56	147.40	95.70		
0.2520	71.54	79.56	149.62	98.14	97.85	2.07
0.2612	74.16	79.56	154.20	100.60		
0.2372	67.34	79.56	145.92	98.77		

2.9 样品测定 精密称取 3 个批号的样品粉末, 按供试品制法制备, 分别精密吸取供试品 10 μ L 和对照品 12 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 阿魏酸含量分别为 0.0279% (20041101), 0.02847% (20041104),

0.02986% (20041112)。

3 讨论

阿魏酸含量测定方法以 HPLC 法较多用, 其中难点之一在于解决阿魏酸稳定性问题的同时又要确保阿魏酸的提取效率。参考众多文献, 发现单独以水、甲醇、乙醇或不同浓度的甲醇水溶液提取阿魏酸, 提取效率和稳定性方面皆不及以甲酸: 甲醇(5: 95)^[1,2]。笔者通过预试验, 以 TLC 作检测, 发现当药物粉末在 80 目左右时, 以甲酸: 甲醇(5: 95) 超声处理(功率 300W, 频率 50kHz) 30min, 样品中阿魏酸可一次提取完全, 且在 4℃时稳定性良好, 可达到含量测定要求。而阿魏酸对照品以 5% 甲酸水溶液作溶剂, 在 4℃时保存, 稳定性亦相当好。上述含量测定方法简便、结果准确, 可用于通脉活络丸中阿魏酸的含量测定。

[参考文献]

- [1] 刘溶梅, 黄罗生. HPLC 法测定当归中阿魏酸方法探讨[J]. 东南大学学报, 2003, 22(2): 98-101.
- [2] 傅欣彤, 刘颖, 张小茜. 当归质量标准的研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(8): 43-45.