

HPLC法测定通脉颗粒中阿魏酸的含量

闫雪梅,赵慧萍,严红*

(天津中医学院第一附属医院 制剂室,天津 300193)

通脉颗粒为我院自制制剂,由当归、姜黄等多味药材加工制成,具有活血化瘀、养血通脉的作用。主治小儿病毒性心肌炎,心肌供血不足,心前区疼痛等症。为了更好地控制该制剂的质量,我们采用 HPLC 法对其君药当归中阿魏酸进行含量测定。本法操作简单,结果准确,重现性好,可作为本制剂的定量方法,控制药品质量。

1 仪器与试药

美国 Waters 高效液相色谱仪(510 输液泵,441 紫外检测器),C1 型-6 通 HPLC 进样阀,Anastar 色谱工作站

通脉颗粒(天津中医学院第一附院制剂室提供),阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 0773-9910,供含量测定用),所用其他试剂均为分析纯

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Irregulair-H C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 10 μ m, 天津三维公司);流动相:甲醇-0.8% 冰乙酸溶液(30:70);流速:1.0 mL/min;柱温:室温;检测波长:313 nm;灵敏度:0.05 AUFS;进样量:20 μ L。色谱图见图 1

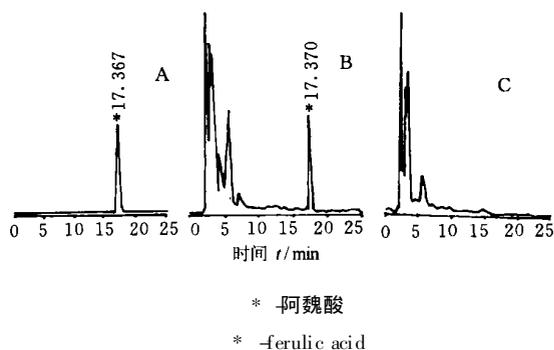


图 1 阿魏酸对照品(A)、通脉颗粒(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of ferulic acid (A), Tongmai Granula (B) and negative control (C)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取阿魏酸对照品 10 mg,置 100 mL 棕色量瓶中,加流动相稀释至刻

度,摇匀,取 1 mL 置 50 mL 棕色量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得(每毫升含阿魏酸 2 μ g)。

2.3 供试品溶液的制备:取本品内容物,混匀,取约 4 g,精密称定,置磨口锥形瓶中,精密加入甲醇-冰乙酸(19:1) 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,密塞,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,离心 10 min (1 000 r/min),精密取上清液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 滤膜滤过,弃去初滤液,收集续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察:精密量取贮备液(0.108 mg/mL) 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 mL,分别置 50 mL 棕色量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 滤膜过滤,弃去初滤液,收集续滤液。分别精密吸取 20 μ L,注入液相色谱仪,测定。以峰面积为纵坐标,阿魏酸对照品的含量为横坐标,绘制标准曲线。计算得回归方程为: $Y = -6949.97 + 7.95 \times 10^4 X$, $r = 0.9999$ 。结果表明阿魏酸在 0.0216~0.1296 μ g 与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验:取同一份对照品溶液(0.00432 mg/mL)连续进样 5 次,测定峰面积,结果 $RSD = 0.43\%$ ($n = 5$)。

2.6 重现性试验:对同一批号(批号 20001211)样品 5 份,按上述方法制成供试品溶液,分别进样测定峰面积,结果 $RSD = 2.77\%$ 。

2.7 稳定性试验:取样品(批号 20001211)依上法制成供试品溶液,放置 0, 1, 2, 3, 4 h 后测定其峰面积,结果其 $RSD = 2.58\%$ ($n = 5$)。

2.8 回收率试验:取同批样品(批号 20001211) 5 份,精密加入阿魏酸对照品溶液(0.113 mg/mL) 1.0 mL,制备供试品溶液,分别进样测定,计算回收率。结果表明 5 次试验平均回收率为 99.46%, RSD 为 2.50%。

2.9 样品测定:取 3 个批号的样品依 2.3 项下方法制成供试品溶液,精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标法

计算含量,结果见表 1

表 1 通脉颗粒中阿魏酸含量测定 ($n=3$)Table 1 Ferulic acid in Tongmai Granula ($n=3$)

批号	阿魏酸含量 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD %
20001110	0.068	1.04
20001211	0.072	1.94
20001213	0.072	1.12

3 讨论

3.1 阿魏酸是当归中有效成分之一,具有明显扩张冠脉血管,增加冠脉流量,改善心肌缺血作用。它是弱有机酸,根据文献我们采用流动相溶解^[1],使阿魏酸稳定性增加,提高了分析结果的准确性。

3.2 本品在进行波长选择时,取阿魏酸对照品适量,用流动相溶解后做紫外扫描,测得最大吸收波长为 313 nm,与文献报道相同^[2],所以检测波长定为 313 nm。

3.3 阿魏酸含量测定所用流动相文献报道主要有甲醇-水-磷酸系统和甲醇-水-冰乙酸系统,经比较以甲醇-水-冰乙酸系统为佳,将甲醇与不同浓度冰乙

酸溶液以不同比例混合作为流动相进行洗脱,最终确定为甲醇-0.8%冰乙酸溶液(30:70)作为流动相,样品中阿魏酸峰可获得良好的分离效果,理论塔板数以阿魏酸峰计算约为 4 000,在上述条件下,阿魏酸与杂质峰分离度符合要求。

3.4 分别用甲醇-50%甲醇-醋酸乙酯-甲酸-甲醇-甲酸-甲醇-冰乙酸等作溶媒对样品进行提取方法的摸索。经测定,以甲醇-冰乙酸(19:1)作为提取溶剂超声处理样品为佳。通过对超声时间和提取溶媒量的考察,发现用 50 mL 甲醇-冰乙酸(19:1)提取 30 min 已将样品中阿魏酸提取完全。

References

- [1] Jia X B, Shi Y F, Huang Y P, et al. Improvement on determination method of ferulic acid in *Radix Angelicae Sinensis* and *Rhizoma Chuanxiong* by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 37-38.
- [2] Wang B Q. Study in the Quality Standard and Standard Substance of Chinese Patent Medicine (中成药质量标准与标准物质研究) [M]. Beijing: China Medicinal Science and Technology Publishing House, 1994.

大孔吸附树脂提取纯化银杏酚酸的研究

倪学文,吴谋成*

(华中农业大学 食品科技系,湖北 武汉 430070)

银杏酚酸(ginkgolic acids)存在于银杏外种皮、果肉和叶中,属漆树酸类化合物,具有抗肿瘤、抗炎、抗过敏、抑菌、防治病虫害和日化用品添加剂等功效^[1,2]。从 20 世纪 60 年代就已经有银杏酚酸的分离提取方法的报道。Gellerman^[3]利用氯仿和甲醇浸提,用硅胶柱层析分离银杏酚酸;Itokawa^[4]将银杏外种皮用甲醇浸提,再经硅胶柱和 ODS 柱得 3 种酸性成分;Irie^[5]使用正己烷浸提银杏叶,然后经硅胶柱和 Sephadex LH-20 分离,用高效液相制备柱制备银杏酚酸。这些方法普遍存在所需溶剂、设备昂贵,方法烦琐的缺点,且无法对银杏酚酸进行大规模的分离,在实际生产中难以得到应用。

本实验以银杏外种皮为原料,比较几种吸附树脂对银杏酚酸的吸附性能,挑选出了适宜的吸附剂,为吸附树脂法分离纯化银杏酚酸奠定一定的基础。

1 材料和仪器

银杏外种皮:采自湖北安陆,经清洗去杂和粉碎干燥;大孔吸附树脂:南开大学化工厂;其他试剂均为分析纯,双蒸水。银杏酚酸对照品由本实验室制备,经归一化法测定,含量大于 98%。

岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,配有 SPD-6AV 紫外可见检测器,CTO-6A 柱温箱;电子恒温水浴锅;真空旋转蒸发器;Alpha-5 真空冷冻干燥器。

2 实验方法

2.1 银杏酚酸粗提液的制备:称取银杏外种皮,以 80% 工业乙醇为浸提溶剂,采用 1:7 的料液比,60℃ 下回流提取 3 次,每次 4 h,经抽滤,真空浓缩后得到银杏酚酸粗提液即吸附原液。

2.2 银杏酚酸测定方法:采用高效液相色谱检测。色谱条件:色谱柱:SupelcosilTM LC-18 (15 cm×4.6 mm, 5 μm);流动相:90% 甲醇,乙酸调 pH 值为 3.15;紫外检测波长:310 nm;流速:0.7 mL/min;灵

* 收稿日期:2002-06-14

作者简介:倪学文(1977-),女,湖北天门人,在读博士研究生,研究方向为天然产物化学。

Tel (027) 87283263 E-mail nxw-t@163.com