

# 反相高效液相色谱法测定天和骨通膏中阿魏酸的含量

## Determination of Ferulic Acid Content of Tianhe Gutong by RP-HPLC

刘华钢      陈燕军      张建云\*      张永贵\*  
Liu Huagang      Chen Yanjun      Zhang Jianyun      Zhang Yonggui

(广西医科大学 南宁市滨湖路6号 530021)  
(Guangxi Medical University, 6 Binhulu, Nanning, Guangxi, 530021, China)

**摘要** 为建立反相高效液相色谱法测定中药橡皮膏天和骨通中阿魏酸含量的测定方法, 采用天和骨通的甲醇-甲酸(95:5)提取液, 通过 Shim-pack CLC-ODS柱, 以甲醇-水-冰醋酸(45:55:1)为流动相, 在 UV-322 nm 波长处检测阿魏酸的含量。测定结果显示, 阿魏酸含量在 2.44 $\mu$ g/ml~12.20 $\mu$ g/ml 的范围内有良好的线性关系,  $r = 0.9999$  平均加样回收率为 101.4%,  $RSD$  为 1.54%。试验表明本方法快速、简便、准确, 可用于天和骨通中阿魏酸的含量测定。

**关键词** 中药橡皮膏 天和骨通 阿魏酸 反相高效液相色谱法 含量测定

中图法分类号 R 284.2

**Abstract** To establish a technique for determination of ferulic acid content of Tianhe Gutong, Chinese medicine adhesive plaster, by the reversed-phase HPLC, the extraction of methanol-formic acid (95:5) of Tianhe Gutong was used to pass through the Shim-pack CLC-ODS volume. A mixture of methanol-water-glacialaceticacid (45:55:1) was used as mobile phase. The ferulic acid content was determined at UV 322 nm. The standard curve was linear in the range of 2.44 $\mu$ g/ml to 12.20 $\mu$ g/ml,  $r = 0.9999$ . The average recovery was 101.4% and  $RSD$  was 1.54%. This method is rapid, simple and accurate, and satisfies the determination of ferulic acid content of Tianhe Gutong.

**Key words** Chinese medicine adhesive plaster, Tianhe Gutong, ferulic acid, RP-HPLC, content determination

天和骨通是根据广西民间传统秘方选用金不换、麻黄、当归、丁公藤、薄荷脑等中药材精制而成的中药橡皮膏剂, 具有祛风散寒、活血通络、消肿止痛等功效。阿魏酸 (Ferulic acid) 为当归中的水溶性有效成分之一, 能抑制血小板聚集, 防止血栓形成, 降低血管通透性, 抑制某些致炎物质如 5-羟色胺的释放, 从而起到活血祛瘀、抗炎镇痛的作用<sup>[1]</sup>。本文建立了天和骨通中阿魏酸的 RP-HPLC 测定法, 其实验结果准确, 重现性好。

## 1 仪器、样品与试剂

### 1.1 仪器

LC-8A 高效液相色谱仪 (日本岛津); SPD-6AV 紫外检测器, C-R4A 数据处理机; SLC-8A 系统控制

器; UV-160A 紫外分光光度计 (日本岛津); LG15-W 高速微量离心机 (北京医用离心机厂)

### 1.2 样品

天和骨通膏由桂林天和制药厂提供 (批号为 980422, 980423, 980424, 980425, 980426, 980427)。

### 1.3 对照品

阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供 (批号为 773-9001)。

### 1.4 试剂

甲醇为优级纯; 色谱用水为去离子重蒸馏水; 其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack CLC-ODS (15 cm $\times$  6.0 cm); 柱温: 室温; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸 (45:55:1); 检测波长: 322 nm; 流速: 1.0 cm/min; 纸速: 2.5 mm/

2000-04-10 收稿, 2000-08-02 修回。

\* 广西中医学院, 南宁, 530001 (Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530001, China)

min; 灵敏度: 0.02 AUFS

## 2.2 供试品溶液的制备

天和骨通橡皮膏 (片) 剪碎加甲醇-甲酸 (95:5)<sup>[2]</sup> 50 ml, 在避光条件下, 浸泡 24 h, 取浸出液置 100 ml 容量瓶中, 残渣再加甲醇-甲酸 40 ml 水浴回流 1 h, 浸出液及回流溶液合并后定容至 100 ml, 离心 (10000 r/min) 15 min 后进样。

## 2.3 标准曲线的测定

精密称取阿魏酸对照品 6.1 mg, 置 25 ml 容量瓶中, 用 1% 醋酸-甲醇 (55:45) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再从中吸取 1 ml 置 10 ml 容量瓶中, 加 1% 醋酸-甲醇 (55:45) 稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 0.0244 mg/ml 对照品溶液; 精密吸取对照品溶液 1.0 ml, 2.0 ml, 3.0 ml, 4.0 ml, 5.0 ml, 分别置于 10 ml 容量瓶中, 加 1% 醋酸-甲醇 (55:45) 至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件进行测定, 每次进样 10 $\mu$ l, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 553.1 + 2818237.7X$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围为 2.44  $\mu$ g/ml ~ 12.20  $\mu$ g/ml 结果见表 1, 色谱峰见图 1

表 1 标准曲线结果

Table 1 Result of standard curve

进样量 Feed ( $\mu$ g)	峰面积 Area	进样量 Feed ( $\mu$ g)	峰面积 Area
0.0244	7296	0.0926	28030
0.0488	14533	0.1220	34930
0.0732	21124		

## 2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液 (0.0244 mg/ml), 重复进样 6 次, 每次进样 10 $\mu$ l, 测定峰面积结果见表 2

## 2.5 重现性试验

取样品 3 片 (批号为 980422), 按供试液制备方法制备, 每次进样 10 $\mu$ l, 平行试验 3 份, 测定峰面积, 结果见表 3

表 2 精密度结果

Table 2 Result of precision

进样次数 Feed times	峰面积 Area	进样次数 Feed times	峰面积 Area
1	71889	4	72156
2	71999	5	73735
3	72350	6	72815

RSD = 0.93%.

## 2.6 稳定性试验

在样品测定过程中, 选择其中一个批号 (980422) 的样品液, 在避光条件下, 每隔 12 h 进样 1 次, 每次进样 10 $\mu$ l, 共测试 5 次, 结果见表 4

表 3 重现性结果

Table 3 Result of repeatability

进样次数 Feed times	峰面积 Area	进样次数 Feed times	峰面积 Area
1	14 584	4	14 201
2	14 730	5	14 653
3	14 943		

RSD = 1.83%

表 4 样品的稳定性结果

Table 4 Samples stability

时间 Time (h)	峰面积 Area	时间 Time (h)	峰面积 Area
0	1 458	36	14 653
12	14 730	48	14 788
24	14 943		

RSD = 0.93%

## 2.7 加样回收率试验

精密吸取对照品溶液, 加入到天和骨通橡皮膏中 (片) 按供试品制备项下制备成溶液, 测定, 每次进样 10 $\mu$ l 结果见表 5

## 2.8 样品的测定

取样品 3 片, 按照供试品制备项下制备成溶液, 摇匀, 在上述色谱条件下每次进样 10 $\mu$ l, 进行色谱分析。按回归方程计算, 结果见表 6, 色谱图见图 2

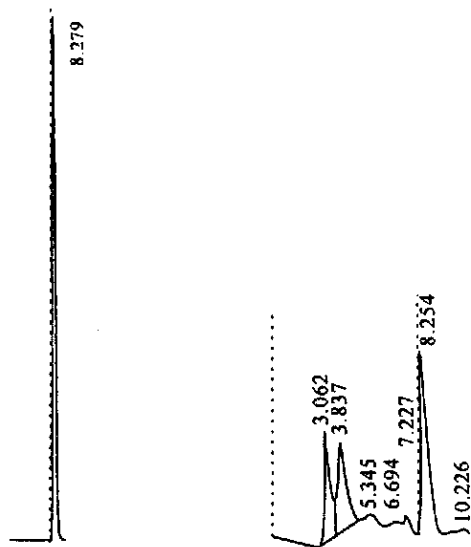


图 1 对照品色谱图

图 2 样品色谱图

Fig. 1 Collator chromatogram Fig. 2 Sample chromatogram

## 3 讨论

波长的选择经紫外波长扫描, 结果表明阿魏酸在 322 nm 处有最大吸收, 故检测波长选用 322 nm, 见图 3

在提取液的选择过程中, 比较了甲醇-甲酸和乙酸乙酯-甲酸两种溶液提取效果, 结果以甲醇-甲酸提

取的阿魏酸与其它杂质峰有较好的分离,且更接近基线。故采用甲醇-甲酸 (95: 5) 作为提取液。

表 5 加样回收率结果

Table 5 Result of recovery

编号 No.	样品含量* Sample content (mg)	加入量 Addition (mg)	测得总量 Total content determined (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average of recovery (%)	RSD
1	0.4908	0.3760	0.8691	100.6		
2	0.4908	0.3760	0.8727	101.6		
3	0.4908	0.3760	0.8649	99.5	101.4	1.54
4	0.4971	0.3760	0.8874	103.8		
5	0.5346	0.3760	0.9159	101.3		

\* 为 3 片膏中的含量 Total content of three tablets

表 6 样品的测定结果

Table 6 Result of samples determination

批号 No.	测定值 Determined contents (毫克/片)				平均值 Average content (毫克/片)	RSD (%)
980422	0.1616	0.1655	0.1679	0.1650	1.93	
980423	0.1641	0.1622	0.1592	0.1618	1.53	
980424	0.1587	0.1569	0.1620	0.1592	1.62	
980425	0.1606	0.1590	0.1572	0.1589	1.07	
980426	0.1747	0.1758	0.1696	0.1734	1.91	
980427	0.1782	0.1752	0.1718	0.1751	1.83	

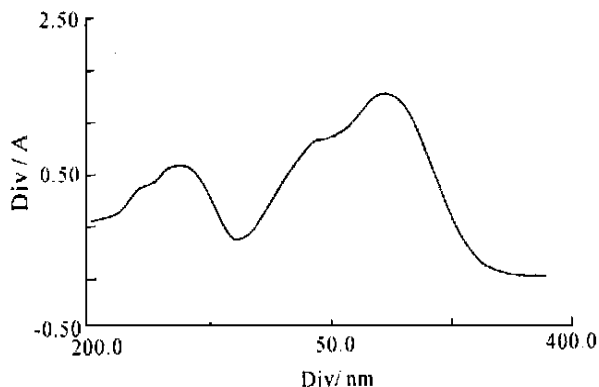


图 3 阿魏酸紫外吸收扫描图

Fig. 3 UV spectrum of ferulic acid

在提取方法及时间的探讨过程中,比较索氏提取、浸泡后回流提取、浸泡后索氏提取 3 种方法;同时比较浸泡 18 h、24 h、36 h、48 h 以及回流 1 h、2 h 的提取时间,结果以 24 h 浸泡液,回流 1 h 后含量最高,即使延长浸泡时间和回流时间,含量不再提高。故选择用浸泡 24 h,回流 1 h 的提取方法及时间。

在流动相的选择过程中,根据文献 [3] 记载醋酸

的百分含量为 10%,对仪器的损害较严重,因此改为醋酸量为 1%,即甲醇-水-冰醋酸 (45: 55: 1)

根据文献 [4] 报道,阿魏酸制成溶液后遇光分解,因此,在实验过程中,避光进行操作。为证实阿魏酸遇光分解的性质,将阿魏酸标准溶液 (0.0244 mg/ml) 在室外阳光下 (35°C) 放置 1h,损失率为 50.5%,结果见表 7,色谱图见图 4

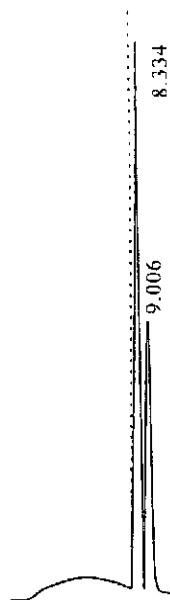


图 4 阿魏酸遇光分解色谱图

Fig. 4 Chromatogram of ferulic acid decomposed by light

阿魏酸在避光条件下测定,有良好的重现性,至少在 48 h 之内稳定。

表 7 阿魏酸溶液遇光分解性

Table 7 Decomposition of ferulic acid solution by light

时间 Time (h)	峰面积 Area	损失率 Loss (%)
0	72371	0
1	35830	50.5

### 参考文献

- 徐秋萍主编. 中药药理学. 贵阳: 贵州科技出版社, 1994. 311.
- 王剑波, 陈波, 王晓娟等. 高效液相法测定复方蟾皮胶囊中阿魏酸的含量. 中国中医药科技, 1995, 2 (2): 26.
- 杨凯, 严红. 高效液相色谱法测定补气养血注射液中的阿魏酸的含量. 中成药, 1993, (7): 17.
- 燕福生, 刘晓东, 宋学英等. 高效液相色谱测定血样中阿魏酸含量. 首都医学院学报, 1991, 12 (1): 27.

(责任编辑: 蒋汉明)