

高效液相色谱法测定中药饮片混煎剂中阿魏酸的含量*

刘秋琼¹ 刘伟祥¹ 李苗盛²

(¹ 广东省人民医院 广州 510080; ² 广州市中山大学化学与化工学院)

阿魏酸(Ferulic Acid,以下简称 FA)是当归的有效成分之一,有抑制胶原和 ADP 诱导的血小板聚集作用^[1],对脑血管病和白细胞增多症有较好疗效。目前,国内外有不少测定 FA 的方法,近年来,以 HPLC 法报道较多^[2~4]。但中药饮片混煎汤剂的 FA 含量测定尚未见文献报道。润肠丸系由火麻仁、桃仁和当归等五味中药组成,具养血润燥的功效,主治虚证便秘。八珍汤则由当归、熟地黄、党参等八味药组成,有补气益血的功效,临床上应用均较为广泛。本文采用 HPLC 法测定润肠丸及八珍汤饮片混煎剂较复杂体系中 FA 的含量,具有方法简便、有良好的灵敏度和重现性的特点。

1 药品、试剂和仪器

1.1 药品 实验所用中药当归、火麻仁、桃仁、熟地黄、党参等均由广东一方药厂提供,经广东省中药研究所鉴定为正品。标准品阿魏酸由中国药品生物制品检定所提供。

1.2 试剂 所用试剂均为分析纯,水为蒸馏水,部分为重蒸去离子水。

1.3 仪器 TGL-16G 型冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);HP1100 型高效液相色谱仪,HP 化学工作站(Chemical Station),惠普

G1030A×PC 微机数据处理系统。

2 样品溶液的准备

2.1 润肠丸饮片混煎汤剂 按处方取当归 3.0g、火麻仁 30.0g、桃仁 30.0g、大黄 3.0g 和羌活 3.0g(共 69.0g),加蒸馏水 414ml 浸泡 20min,煮沸后改微沸 30min,趁热过滤。第二煎加水 345ml,煎法及处理同上。合并滤液,减压浓缩至约 69ml。浓缩液以 3000r/min 离心 10min,上清液转移并稀释至 69ml,得每 ml 含生药 1.0g 的煎剂。

2.2 八珍汤饮片混煎汤剂 按处方取党参 10.0g、白术 10.0g、甘草 5.0g、当归 15.0g、白芍 10.0g、川芎 7.5g、茯苓 10.0g、熟地黄 15.0g(共 82.5g),加水量和处理方法同上,得每 ml 含生药 1.0g 的煎剂。

3 实验方法和结果

3.1 色谱条件 色谱柱:HP-ODS 柱 5 μ m, 4mm×125mm;流动相:甲醇:水(0.1%冰醋酸)=35:65;流速:0.70ml/min;检测波长:320nm(FA 峰与其它杂峰分离完全,干扰少);参比波长:420nm;检测器:二极管阵列检测器。

3.2 标准曲线的制备 精密称取 FA 标准品 1.029mg,置 10ml 容量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,此时每 ml 含 0.103mg 的 FA 标准溶液。再精密量取 FA 标准溶液

* 广东省中医药管理局重点资助课题

0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25ml 分置于 10ml 容量瓶中, 以甲醇定容。在上述色谱条件下, 进样 20 μ L, 记录色谱图。由测得峰面积对相应的浓度作图, 得通过原点、很好的标准曲线, $r=0.9990$ 。

3.3 供试液的准备和样品测定 精密量取润肠丸饮片混煎剂 2ml, 加 2ml 水稀释, 依次用乙酸乙酯提取 2 次(15 和 12ml)合并提取液, 经干燥、过滤, 减压回收溶剂至近干, 加入 5ml 甲醇, 振荡 20min, 再以 3000r/min 的转速离心 10min, 上清液转移, 并用甲醇定容至 5ml, 作为供试液。用同样方法制备八珍汤饮片混煎汤剂的供试液。取上述供试液各进样 20 μ L, 记录色谱图(图略, $R_t=14.169$ min)由 HP 化学工作站(惠普 G1030A $\times$ PC 微机)系统处理数据, 求得供试液中 FA 的含量。结果见精密度试验。

3.4 精密度试验 取 20 μ L 样品依次测定 5 次, 结果为润肠丸饮片煎剂中 FA 含量为 104.6 μ g/ml, $RSD=2.5\%$ ($n=5$); 八珍汤饮片煎剂中 FA 含量为 161.5 μ g/ml, $RSD=2.7\%$ ($n=5$)。

3.5 FA 的加样回收试验 取已知含量的同一批饮片煎剂样品 3 份, 每份 2ml, 分别精密加入 FA 标准溶液, 依上法制成供试液, 进样 20 μ L, 测定 FA 总量, 扣除样品中 FA 含量, 并计算回收率, 结果见表 1、表 2。润肠丸平均回收率为 $(96.1 \pm 2.5)\%$, $RSD=2.6\%$; 八珍汤平均回收率为 $(95.0 \pm 2.9)\%$, $RSD=3.05\%$ 。

表 1 润肠丸饮片煎剂加样回收试验结果

FA 加入量 μ g/ml	样品中 FA 含量 μ g/ml	实测 FA 总量 μ g/ml	回收率 %
105.4	104.6	208.0	98.1
105.4	106.6	204.7	93.1
210.4	103.8	307.5	96.8
210.4	103.4	306.0	96.3

表 2 八珍汤饮片煎剂加样回收试验结果

FA 加入量 μ g/ml	样品中 FA 含量 μ g/ml	实测 FA 总量 μ g/ml	回收率 %
168.5	161.5	326.4	97.9
168.5	166.6	321.8	92.1
336.4	160.1	481.3	95.5
336.4	162.2	480.1	94.5

4 讨论

4.1 我们曾比较乙酸乙酯及二氯甲烷的提取效果, 发现乙酸乙酯的效果好得多, 如润肠丸饮片煎剂改用二氯甲烷提取, 所得供试液在同样条件下测定, 其 FA 含量仅为 12.0 μ g/ml, 系用乙酸乙酯提取测得值的 1/8.7。这可能是 FA 易为极性较大的乙酸乙酯所提取有关。

4.2 FA 对照标准品要新鲜配制, 提取后的供试液不宜久置, 否则会出现絮状沉淀物而影响测定的准确度。

致谢: 中山大学测试中心协助进行 HPLC 测定。

参考文献

- 1 尹钟珠, 张凌云, 徐理纳. 当归及其成分阿魏酸对大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的影响. 药理学学报, 1980, 15(6): 331
- 2 陈汉平, 刘素香, 李桂梅, 等. 高效液相色谱法测定当归及其炮制品中阿魏酸的含量. 中成药, 1988, 19(10): 15
- 3 赵淑杰. 高效液相色谱法测定消痛液药酒中阿魏酸的含量. 药物分析杂志, 1992, 12(2): 119
- 4 张立坤, 陈新旺, 邹安庆. 高效液相色谱法测定复方制剂中阿魏酸和川芎嗪. 中草药, 1996, 27(4): 213

(收稿: 1999-01-13)