

HPLC 法测定健脑丸中阿魏酸含量

吴爱英 杨晓云 王爱梅¹ (青岛 266071 青岛市药品检验所;¹ 莱西市药品检验所)

摘要 目的: 测定健脑丸中阿魏酸含量。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱为 C₁₈, 流动相为甲醇- 水- 冰醋酸(38: 62: 0.1), 检测波长为 323nm。结果: 平均加样回收率为 99.07%。结论: 方法简便、快速、灵敏度高, 可用于该品的质量控制。

关键词 HPLC; 阿魏酸; 含量测定

Determination of ferulic acid in jiannaowan

Wu aiyang, Yang Xiao-yun, Wang aierwei(Qing-dao Institute for Drug Control)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method for the quality control of Jiannaowan. **METHODS:** HPLC is employed column: YWG-C₁₈(4.6mm×250mm, 5μm), mobile phase: methanol: water: hydrochloride (38: 62: 0.1), wavelength: 232nm, flow rate: 1.0ml·min⁻¹, column temperature: room temperature. **RESULTS:** The recovery is 99.07%. **CONCLUSION:** The method can be used as standard quality control method. It was convenient, sensitive accurate. **KEY WORDS** HPLC, Ferulic acid, Determine, Jiannaowan

健脑丸为青岛国风药业有限公司生产的国家级中药保护品种,是由当归、肉苁蓉、酸枣仁、山药等十余味中药组成的复方制剂,具有补肾益智、养血安神之作用,用于头晕目眩,健忘失眠,身倦神疲,心悸不宁,身亏腰痛,记忆衰退等症。当归为其君药,为了控制其质量,我们对当归中的阿魏酸,进行含量测定。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: SP8800 泵、SP8450 紫外检测器、SP4290 数据处理机(美国,光学物理公司); 甲醇为色谱纯; 其他试剂为分析纯; 阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所); 健脑丸(青岛国风药业有限公司); 当归(青岛国风药业有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: YWG-C₁₈(4.6mm×250mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(38: 62: 0.1); 检测波长: 323nm; 柱温: 室温; 灵敏度: 0.50AUFs; 流量: 1.0ml·min⁻¹; 进样量 10μl; 理论塔板数: 按阿魏酸峰计算应不低于 3000。

2.2 供试品溶液的制备 取本品 50 粒,研细,精密称取本品约 5g,置具塞三角烧瓶中,精密加入酸性醋酸乙酯(醋酸乙酯: 冰醋酸为 100: 2)50ml,称重,放置过夜,超声提取 30 分钟,称重,补足损失重量,滤过,弃去初滤液,取续滤液 30ml,水浴蒸干,加酸性甲醇(甲醇-甲酸为 95: 5)溶解,取上清液并定容置 10ml 量瓶中,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.1 提取方法的选择: 根据试验结果定为放置过夜超声提取 30min。见表 1。

表 1 提取方法试验表

方法	过夜超声 提取 30min	未过夜超声 提取 30min	回流 提取 30min
峰面积(n=3)	2987	2562	2663

2.3 当归药材溶液的制备精密称取当归粉末约 1g,置具塞三角烧瓶中,加酸性醋酸乙酯 50ml,称重,补足损失重量,滤过,弃去初滤液,取续滤液 30ml,水浴蒸干,加酸性甲醇溶解,取上清液并定容置 10ml 量瓶中,摇匀,即得当归药材溶液。

2.4 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品 27.3mg,置 25ml 量瓶中,加酸性甲醇适量使溶解,加酸性甲醇至刻度,摇匀,即得(每 ml 含阿魏酸 1.092mg)。用时稀释成 1ml 含阿魏酸 20μg。

2.5 超声提取时间考察 以健脑丸提取物为对象,选择不同超声时间,测定阿魏酸含量。从试验结果看出,超声提取 30min 后阿魏酸已基本提取完全,故确定超声提取时间为 30min。

2.6 空白试验 按质量标准中处方比例配成缺当归的健脑丸,然后按供试品溶液的制备方法,制备阴性对照液,按上述色谱法测定,结果在阿魏酸峰出现的时间无峰出现,表明,健脑丸中其他成分对当归中的阿魏酸测定无干扰。

2.7 最大吸收波长的选择 取阿魏酸对照品适量,加酸性甲醇溶解,用日立-3201 分光光度计进行全波长扫描,阿魏酸的酸性甲醇溶液在 323nm 处有最大吸收。

2.8 线性关系的考察 精密称取阿魏酸对照品 34.6、69.2、103.8、138.4、173.2、207.6、242.2、276.8μg,置 10ml 量瓶中,加酸性甲醇适量并稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标、阿魏酸量为横坐标绘制标准曲线,计算,得回归方程。结果表明阿魏酸在 34.6μg~276.8μg 之间呈良好的线性关系。

回归方程: Y=306.8247X-1977.418 r=0.9998

2.9 精密度试验 精密吸取阿魏酸对照品溶液,重复进样六次,测定阿魏酸峰面积积分值,结果 RSD=0.9%。

2.10 稳定性试验 精密吸取阿魏酸对照品及供试品溶液各 10μl,每隔 0h,5h,8h,24h,36h,48h 进样一次,测得阿魏酸峰面积值,其 RSD 分别为 0.9%、1.1%。结果表明,阿魏酸的酸性甲醇溶液三天内稳定。

2.11 重复性试验 精密称取同一批的样品 6 份,依法操作,测得其平均含量为 30.1μg/g, RSD 为 1.5%。

2.12 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量五批健脑丸约 2.5g,分别精密加入阿魏酸对照品适量,按上述色谱条件测定,计算回收率。结果见表 2:

2.13 当归药材的含量测定 分别精密吸取对照品溶液与当归药材溶液各 10μl,按上述色谱条件,依法操作,计算当归中阿魏酸的含量,三批当归测定结果,见表 3:

表 2 回收率试验结果

样品中阿魏酸的含量 $\mu\text{g/g}$	加入阿魏酸的量 $\mu\text{g/g}$	测定结果 $\mu\text{g/g}$	回收率 %	峰面积	平均回收率 %
13.55	14.25	27.8	100.0	32616	99.07
14.15	14.4	28.55	100.0	32284	
14.1	15.05	28.7	97.00	31443	
14.15	15.3	29.3	99.02	32312	
14.0	14.9	28.8	99.33	34562	

表 3 当归中阿魏酸的含量测定

批号	1	2	3
阿魏酸含量 $\mu\text{g/g}$	115.1	111.3	109.6

2.14 样品的含量测定分别精密吸取对照晶溶液与供试品溶液各 $10\mu\text{l}$, 按上述色谱条件, 依法操作, 计算样品中阿魏酸

的含量, 三批样品测定结果见表 4:

表 4 样品含量测定

批号	阿魏酸含量 $\mu\text{g/g}$ (n= 3)	平均阿魏酸含量 $\mu\text{g/g}$
20000408	31.3	29.5
990757	28.0	
981243	29.3	

3 讨 论

- 3.1 阿魏酸遇光易分解, 本试验全部操作应在避光、暗处操作。
- 3.2 研究过 20 批健脑丸含量, 暂定本品阿魏酸含量每粒应不少于 $25\mu\text{g/g}$ 。
- 3.3 HPLC 测定阿魏酸的含量已有报道, 但近似健脑丸的组方未见研究, 且提取方法、流动相亦不同于其他报道。