

养阴镇静片中阿魏酸的含量测定

高晓燕,孟艳彬,赵春颖(河北省承德医学院中药研究所,河北 承德 067000)

摘要:目的 测定养阴镇静片中阿魏酸的含量。方法 用高效液相色谱法,色谱柱为 Discovery C_{18} 柱,流动相为乙腈-0.5%冰醋酸(20:80)。结果 阿魏酸浓度线性范围为 0.01444 ~ 0.1083 mg/mL, $r = 0.9999$,平均回收率为 97.13%($n = 5$), RSD 为 2.04%($n = 5$)。结论 方法简便、准确、重复性好,可作为该制剂的含量测定方法。

关键词:养阴镇静片;阿魏酸;含量测定

中图分类号:R917.01;R927.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2003)06-0501-02

Determination of ferulic acid in yangyin zhenjing tablet by RP-HPLC

GAO Xiao-yan, MENG Yan-bin, ZHAO Chun-ying(*Institute of Traditional Chinese Medicine, Chengde Medical College, Chengde 067000, China*)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish a method for determination the content of ferulic acid in Yangyin Zhenjing tablet by HPLC. **METHOD** Discovery C_{18} was used as a stationary phase, acetonitrile-0.5% acetic acid solution (20:80) was used as the mobile phase. The UV-VIS detector was set at 335 nm. **RESULTS** The assay was linear in the range of 0.01444 ~ 0.1083 mg/mL ($r = 0.9999$). The average recovery of ferulic acid was 97.13% ($RSD = 2.0\%$). **CONCLUSION** The method is simple and accurate with a good reproducibility, which can be used as quantitative method for this preparation.

KEY WORDS:Yangyin Zhenjing tablet; ferulic acid; determination

养阴镇静片由当归、麦冬、五味子、首乌藤、地黄、茯苓、柏子仁、党参、珍珠母、远志、桔梗、朱砂等 12 味中药组成,具有镇静安神之功效,其中当归为君药,阿魏酸是当归中的主要有效成分,为了有效地控制本品质量,采用 HPLC 测定了该制剂中阿魏酸的含量,为养阴镇静片的质量控制提供了快速、准确的测定方法。

1 仪器与试剂

METTLER AG-245 型电子天平,SHIMADZU LC-10AT 高效液相色谱输液泵,SPD-M10A 紫外-可见检测器,CLASS-VP6.1 色谱工作站,CX-250 超声波清洗器;乙腈(色谱纯) Fisher Chemicals。阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供,(批号为 0773-9910,含量为 98%,含量测定用),养阴镇静片样品由河北省围场县药厂生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Discovery C₁₈, 5μm, 250 mm × 4.6 mm, 流动相: 乙腈-0.5%冰醋酸水溶液(20:80), 流速: 0.8 mL/min, 经紫外扫描, 确定阿魏酸检测波长为 335 nm, 柱温: 室温, 进样量: 10 μL, 理论塔板数以阿魏酸计算为应不低于 8200, 阿魏酸与相邻峰之间的分离度均大于 1.5。

2.2 供试品溶液的制备

取养阴镇静片 20 片, 剥去糖衣, 精密称重, 研磨成细粉。精密称取养阴镇静片细粉 5 g, 加 5%碳酸钠水溶液 40 mL, 超声提取 30 min, 提取液用 30 mL 乙醚洗涤, 弃去乙醚溶液, 水溶液用盐酸调 pH ~ 2 后, 再用乙醚萃取 3 次, 每次 20 mL, 合并乙醚溶液, 回收乙醚, 残渣蒸干后, 用甲醇定溶于 10 mL 量瓶中, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为样品溶液。

2.3 线性关系的考察

对照品溶液的配制: 精密称取干燥至恒重的阿魏酸对照品 9 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对照品储备溶液。精密移取该溶液 0.4, 0.6, 1.0, 2.0, 3.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得系列对照品溶液。取各浓度对照品溶液 10 μL 进样, 记录色谱图。以阿魏酸的峰面积(Y)为纵坐标, 以对照品溶液的浓度(X)为横坐标, 进行回归分析, 求得回归方程如下:

$$Y = 52\,242\,717 X + 24\,151 \quad r = 0.999\,9$$

由此说明阿魏酸含量在 14.44 ~ 108.3 μg/mL 内线性关系良好。

2.4 加样回收率试验

精密称取批号为 20010316 的养阴镇静片细粉检查样品 5 份(每份约 12 mg), 精密加入浓度为 361 μg/mL 的阿魏酸对照品储备液 1 mL, 照“2.2”项下方法操作, 取续滤液 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算样品中阿魏酸的量, 测得阿魏酸的增加量与加入量之比为回收率。计算回收率结果见表 1

表 1 阿魏酸的回收率

Tab 1 Recovery of ferulic acid

样品中 阿魏酸量 (μg)	阿魏酸 加入量 (μg)	阿魏酸 测得量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
296	361	652	98.61		
315	361	663	96.40		
278	361	635	98.89	97.12	0.02
321	361	666	95.57		
240	361	587	96.12		

2.5 精密度试验

精密吸取阿魏酸对照品溶液 1.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 分别进样, 记录色谱峰。计算 RSD 为 0.21%, 说明仪器精密度良好。

2.6 重现性试验

精密称取批号为 20010316 的养阴镇静片样品细粉 5 份(每份约含 12 mg), 照“2.2”及“2.9”项下方法进行分析, 测得样品中阿魏酸的峰面积, 以浓度为 72.2 μg/mL 的阿魏酸对照品溶液为外标, 以外标对比法计算样品溶液中阿魏酸的含量。求得 RSD 为 1.2%, 因此该方法重现性良好。

2.7 稳定性试验

将浓度为 0.072 2 mg/mL 的阿魏酸对照品溶液在 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h 进样, 测得阿魏酸的峰面积日内 RSD 为 1.1%。将该溶液在冰箱内保存, 分别为第 1, 2, 3, 5, 7 天进样, 测得阿魏酸峰面积日间 RSD 为 1.5%。表明阿魏酸的甲醇溶液闭光冷藏, 在 7 d 内稳定。

2.8 空白试验

按处方比例制成缺当归药材的养阴镇静片, 然后按“2.2”项下操作, 制备供试液, 进行分析, 记录色谱图。结果表明养阴镇静片中其它成分对阿魏酸的测定无干扰。

表 2 养阴镇静片中阿魏酸的含量

Tab 2 Ferulic acid contents in Yangyin Zhenjing tablets

批号	百分含量(%)	平均百分含量(%)
20010316	0.0127	0.0129
	0.0130	
	0.0129	
20010318	0.0126	0.0128
	0.0131	
	0.0128	
20010402	0.0130	0.0129
	0.0129	
	0.0127	

2.9 样品测定

将制备好的 3 批样品溶液在上述色谱条件下进行测定, 测得 3 批样品中阿魏酸的含量结果见表 2。

3 讨论

HPLC 测定阿魏酸的含量已有文献报道^[1,2], 但养阴镇静片是由 12 味中药组成的大复方, 对单一成分的测定比较困难。本实验考察了各种比例的甲醇-水系统, 结果阿魏酸均不能与干扰组分分离, 加入冰醋酸后, 仍不能实现基线分离。以乙腈-水进行实验, 发现当乙腈-水(20:80)为流动相时, 被测组分分离效果好, 但峰形仍不够理想。考虑到阿魏酸的分子结构特点, 在乙腈-水(20:80)的基础上加入少量冰醋酸, 结果分离效果好且峰形对称, 所以选择乙腈-0.5%冰醋酸(20:80)为流动相, 实验测定方法的精密性及回收率均好。

参考文献

[1] 贾晓斌, 施亚芳, 黄一平, 等. 当归和川芎中阿魏酸高效液相色谱测定方法的改进[J]. 中成药, 1998, (20)1961, 01:37.
[2] 顾民, 张亮, 张正行. HPLC 测定逍遥散及当归中阿魏酸的含量[J]. 中成药, 2000, 2(5):342.

收稿日期: 2002-11-29