

HPLC 法测定当归片中阿魏酸的含量

张继东

(河南省周口市食品药品检验所, 周口 466000)

摘要 目的:建立高效液相色谱法测定当归片的含量。方法:色谱柱为 Zorbaxl C₁₈,流动相为乙腈-0.085% 磷酸溶液(17:83),检测波长为 316 nm,流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果:阿魏酸进样量在 9.724~58.344 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好($r=0.9999, n=6$)。阿魏酸的平均回收率为 99.7%,RSD 为 1.7%($n=6$)。结论:本法简便、准确,重现性好,可作为当归片的质量控制方法。

关键词:高效液相色谱法;当归片剂;阿魏酸

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:0254-1793(2011)10-1979-03

HPLC determination of ferulic acid in Danggui tablets

ZHANG Ji-dong

(Zhoukou Institute for Food and Drug Control, Henan Province, Zhoukou 466000, China)

Abstract **Objective:** To establish a method for the determination of ferulic acid in Danggui Tablets by HPLC. **Method:** HPLC was used Zorbaxl C₁₈ column, mobile phase was composed of Acetonitrile-0.085% H₃PO₄ (17:83), The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ with detection wavelength at 316 nm. **Result:** The linear range of ferulic acid was from 9.724~58.344 μg·mL⁻¹ ($r=0.9999, n=6$). The average recovery was 99.7%, and RSD was 1.7% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, accurate and suitable. It can be used for the quality control of Danggui tablets.

Key words: HPLC; Angelica sinensis Radix; tablets; ferulic acid

当归片是由当归饮片经加工制成的浸膏片,具有补血活血,调经止痛的功效,临床主要用于血虚引起的面色萎黄,眩晕心悸,月经不调,经闭痛经等,为临床常用药。阿魏酸是当归(Angelicae sinensis Radix)的有效成分之一^[1],具有促进细胞免疫和体液免疫的功能^[2];原质量标准^[3]仅对当归进行了薄层鉴别,无含量测定项目。为有效控制产品质量,笔者参考有关文献^[4~6],对样品处理方法和色谱分离系统进行优化,用高效液相色谱法测定阿魏酸的含量。实验结果表明,本文所建立的色谱方法,具有简便、快速、重现性好的优点,可作为当归片的含量测定方法。

1 仪器与试剂

LC-2010C_{HT}型高效液相色谱仪(日本岛津),UV detector 高灵敏度紫外检测器,LC Solution single 色谱工作站,92SM-202A 型普利赛斯电子分析天平,KQ-500 型超声波清洗器。阿魏酸对照品(批

号:0773-9910,中国药品生物制品检定所),当归片(河南龙都药业有限公司,090502;新乡中杰药业有限公司,批号:090411;河南怀庆药业有限公司,20090201),乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯,水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取阿魏酸对照品 24.31 mg,置 100 mL 量瓶中,加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密量取储备液 2 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 取本品 20 片,除去糖衣,研细,取约 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇溶液 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 500W,频率 40 kHz) 20 min,放冷,再称定重

重量,加 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。取续滤液作为供试品溶液。

2.2 色谱条件 色谱柱: Zorbaxl C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈 - 0.085% 磷酸溶液 (17:83); 检测波长: 316 nm; 流速: 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 进样量: 10 μ L; 柱温: 35 $^{\circ}$ C。理论板数按阿魏酸峰计算应不低于 5000; 分离度大于 1.5。色谱图见图 1。

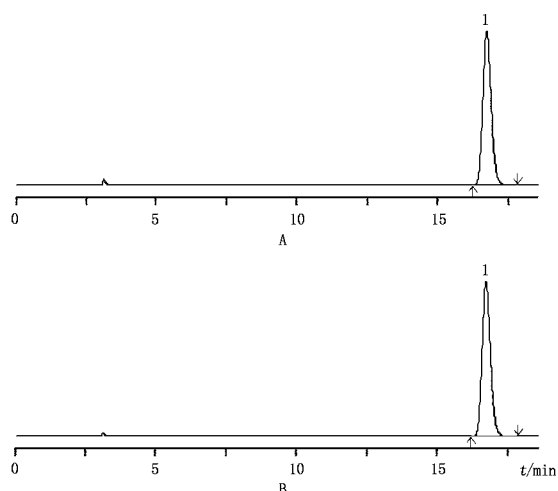


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

A. 阿魏酸对照品 (Ferulaic acid reference substance) B. 当归片样品 (Danggui tablet sample).

1. 阿魏酸 (ferulaic acid)

2.3 线性关系考察 精密量取对照品储备液 1, 2,

3, 4, 5, 6 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 分别精密吸取 10 μ L 进样, 以峰面积 Y 对对照品进样量 X (μ g $\cdot$ mL $^{-1}$) 作线性回归。得线性回归方程为 ($n=6$):

$$Y = 5.191 \times 10^4 X + 1.337 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

结果表明, 阿魏酸进样量在 9.724 ~ 58.344 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取阿魏酸浓度为 19.448 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 的对照品溶液, 连续测定 6 次, 结果峰面积平均值为 1027805, RSD 为 0.78%。

2.5 重复性试验 称取同一批号样品 (批号: 090411) 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备后, 以本文色谱条件测定阿魏酸的含量, 平均含量为 0.615 mg $\cdot$ 片 $^{-1}$, RSD 为 1.03%。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 (批号: 090411), 按本文色谱条件分别于 0, 1, 2, 3, 4 h 测定, 结果表明, 供试品溶液室温 4 h 内基本稳定, 5 个不同时间点测得峰面积平均值为 1448726, RSD = 1.3%。

2.7 加样回收试验 精密称取已知含量的同一批号样品 (批号: 090411, 含量 0.615 mg $\cdot$ 片 $^{-1}$, 即 2.622 mg $\cdot$ g $^{-1}$) 6 份, 分别精密加入对照品储备液 (24.31 mg $\rightarrow$ 100 mL) 各 1 mL, 再分别按供试品溶液制备方法制备溶液, 并测定阿魏酸的含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

Tab 1 Results of recovery test sample ($n=6$)

称样量 (weight) / g	样品中含量 (ferulaic acid in sample) / mg	对照品加入量 (standard added) / mg	测得量 (measured) / mg	回收率 (recovery) / %	平均回收率 (average recovery) / %	RSD / %
0.3157	0.7141	0.2431	0.9537	98.56	99.69	1.67
0.3006	0.6800	0.2431	0.9288	102.34		
0.3094	0.6999	0.2431	0.9415	99.38		
0.2978	0.6736	0.2431	0.9107	97.53		
0.3142	0.7107	0.2431	0.9532	99.75		
0.2965	0.6707	0.2431	0.9152	100.58		

2.8 样品含量测定

取样品 3 批, 分别按本试验方法测定其含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 The determination result of sample

批号 (batch number)	含量 (content) / mg $\cdot$ 片 $^{-1}$
090502	0.579
090411	0.615
20090201	0.648

3 讨论

3.1 检测波长的选择 取对照品溶液在 200 ~ 400 nm 波长范围内扫描, 在 316 nm 波长处有最大吸收, 故将 316 nm 作为检测波长。

3.2 流动相的选择 参照有关文献^[1,2,4~9] 阿魏酸含量测定项下的流动相, 以乙腈 - 0.085% 的磷酸溶液, 甲醇 - 1% 冰醋酸溶液, 甲醇 - 0.1% 磷酸溶液作为流动相, 调整各组分的比例, 发现以乙腈 - 0.085% 的磷酸溶液 (17:83) 作流动相, 峰形和分离

度都很满意,也没有杂质峰的出现,故以乙腈 - 0.085% 的磷酸溶液(17: 83) 作为流动相。

3.3 当归片为单味药制剂,在本实验的过程中,取其处方辅料,按照本文样品溶液的制备方法,制备缺当归的阴性对照品溶液。依照本文色谱条件进行测定,发现其阴性溶液对阿魏酸的测定没有影响,也就是阴性对照无干扰。

参考文献

- 1 ChP(中国药典) . 2010. Vol I (一部) : 124
- 2 YUAN Li - xia(袁丽霞) , WANG Hong(王红) . Determination of Ferulic Acid in Danggui Kushen Wan by HPLC(HPLC 法测定当归苦参丸中阿魏酸的含量) . *Chin Pharm Aff*(中国药事) , 2008, 22(1) : 61
- 3 Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, P R China. Part 1, Vol. 20, Appendix(卫生部药品标准一部第二十册) . 1998. 98
- 4 YUAN Meng - zhe(袁梦哲) , LI Shao - feng(李绍峰) . The Experiment Design of Preparative Condition of Ferulic Acid in Assaying Angelica Content(当归含量测定时阿魏酸供试品制备条件的试验

- 设计) . *Chin J Chin Med*(中医学报) , 2010, 25(1) : 120
- 5 TANG Li - ying(唐力英) , WANG Zhu - ju(王祝举) , HAO Yan(郝炎) , *et al.* Determination of Ferulic acid in Angelic by HPLC(高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量) . *Chin J Exp Trad Med Form* (中国实验方剂学杂志) , 2006, 12(2) : 14
- 6 ZHU Hang(朱航) . Determination of Ferulic acid in Chinese angelic by HPLC(高效液相色谱法测定中药当归中阿魏酸的含量) . *Strait Pharm J* (海峡药学) , 2006, 18(5) : 77
- 7 GUO Liang - xue(郭良雪) , LI Xiao - qiang(李晓强) . RP - HPLC assay of sodium ferulate injection(高效液相色谱法测定阿魏酸钠注射液的含量) . *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) , 2007, 27(3) : 444
- 8 REN Zhan - jun(任占军) , GU Xue - xin(谷学新) , HOU Shi - guo(侯士果) . Study on microwave technique for extracting ferulic acid from Radix Angelicae(微波萃取法提取当归中阿魏酸的研究) . *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) , 2008, 28(1) : 115
- 9 XIE Jing - jing(谢京晶) , YU Yue(于玥) , WANG Yi - tao(王一涛) , *et al.* Simultaneous HPLC determination of 6 components in Angelica sinensis (HPLC 法同时测定当归药材中 6 种成分的含量) . *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) , 2007, 27(9) : 1314

(本文于 2011 年 1 月 12 日收到)

《药物分析杂志》编辑部电话变更通知

尊敬的作者/读者:

您好!

因《药物分析杂志》编辑部业务发展需要,本编辑部将联络电话和传真进行了调整,编辑部电话总机为 010 - 67058427/010 - 67012819。如您需要与负责稿件的编辑联系,请拨分机号:

办公室拨 1,栗晓黎副主任拨 2,于宝珠拨 3,陈唯真拨 5,赵慧芳拨 6,陈立亚拨 7,刘小帅拨 8。

广告业务拨 3; 传真拨 4

如需咨询缴费等财务事宜,请拨 8 咨询刘小帅。

查询稿件进度请登录 <http://www.ywfxzz.cn> 自行查询。

特此通告,感谢您对我们工作一如既往的支持。

《药物分析杂志》编辑部