

HPLC法测定天王补心丸中阿魏酸的含量

刘旺培*, 黄义纯, 陈华龙(韶关市食品药品检验所, 广东 韶关 512028)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3003-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.45

摘要 目的:建立测定天王补心丸中阿魏酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C₁₈,流动相为乙腈-1%冰醋酸溶液(15:85, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为323 nm,柱温为室温,进样量为20 μl。结果:阿魏酸的质量浓度在0.091 2~2.28 μg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$),精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%,平均加样回收率为98.96%,RSD为0.26%($n=9$)。结论:该方法简单、精确、可靠,可作为天王补心丸中阿魏酸的质量控制方法。

关键词 高效液相色谱法;天王补心丸;阿魏酸;含量测定

Content Determination of Ferulic Acid in Tianwang Buxin Pills by HPLC

LIU Wang-pei, HUANG Yi-chun, CHEN Hua-long (Shaoguan Institute for Food and Drug Control, Guangdong Shaoguan 512028, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method to determine the content of ferulic acid in Tianwang buxin pills. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C₁₈ with the mobile phase of acetonitrile-1% glacial acetic acid solution (15:85, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 323 nm, the temperature was room temperature, and the volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of ferulic acid was in the range of 0.091 2-2.28 μg/ml ($r=0.999\ 8$); the RSDs of precision, stability and reproducibility tests were less than 2.0%, and the average recovery was 98.96% (RSD=0.26%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and can be used as the quality control method of ferulic acid in Tianwang buxin pills.

KEYWORDS HPLC; Tianwang buxin pill; Ferulic acid; Content determination

天王补心丸是由当归、酸枣仁、丹参、党参、茯苓、桔梗等16味中药组成的复方制剂,其质量标准收载于2010年版《中国药典》(一部)中^[1]。现行国家药品标准只对方中五味子的有效成分五味子醇甲作定量分析。文献报道了该制剂其他药材主要成分的定量测定方法,如酸枣仁皂苷A、远志皂苷、丹酚酸B、丹参素、丹参素钠、梓醇等^[2-4],但对阿魏酸的含量测定方法尚未见报道。阿魏酸是当归的主要成分,同时也是酸枣仁中有效成分之一^[5-8]。为了更加科学合理地控制天王补心丸的质

量,笔者对方中阿魏酸的含量进行测定。

1 材料

1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);AG135型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ-300DE台式数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:

3.3 提取方法的选择

笔者参考相关文献^[3]采用超声法用甲醇进行提取,分别考察了超声5、10、20 min对3个成分的影响。结果发现,超声10 min的提取量比5 min要高,而与超声20 min的提取量没有明显差异,因此选择超声提取时间为10 min。

综上所述,该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于小青龙颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:505.
- [2] 孙素珍, 孙树周. RP-HPLC法测定小青龙颗粒中芍药苷的含量[J]. 广东药学院学报, 2003, 19(3):212.
- [3] 朱燕飞. HPLC测定小青龙颗粒中麻黄碱、伪麻黄碱的含

量[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7):848.

- [4] 张建军, 欧丽娜, 李伟, 等. 小青龙颗粒中麻黄碱及伪麻黄碱在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中华中医药杂志, 2012, 25(12):1 991.
- [5] 黄富宏, 王健, 茅渊, 等. 高效液相色谱法测定小青龙颗粒中甘草酸铵含量[J]. 中国药业, 2012, 21(21):28.
- [6] 王健, 梁宪扬. HPLC测定小青龙颗粒中甘草酸铵的含量[C]//2010年江苏省药学会大会暨第10届江苏省药师周大会论文集, 2010:123.
- [7] 赵寨红. RP-HPLC法测定小青龙颗粒中五味子的五味子醇甲含量[J]. 黑龙江医药, 2013, 26(6):971.
- [8] 马悦颖, 李沧海, 李兰芳, 等. 桂皮醛解热镇痛抗炎作用的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(12):1 336.

* 主管药师。研究方向:药品检验。电话:0751-8722365。
E-mail:270662806@qq.com

(收稿日期:2015-01-28 修回日期:2015-05-17)

(编辑:申琳琳)

110773-201313,纯度:99.6%,置入五氧化二磷减压干燥12 h后使用);天王补心丸(马鞍山天福康药业有限公司,批号:20130528,规格:200丸/瓶;佛山冯了性药业有限公司,批号:130003、120002,规格:6 g×10袋);乙腈(色谱纯,美国Tedia公司);冰醋酸(分析纯,西陇化工股份有限公司);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-1%冰醋酸溶液(15:85, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:323 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取阿魏酸对照品适量,用1%冰醋酸甲醇溶液溶解制成质量浓度为0.228 μg/ml的溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取本品细粉约3.0 g至三角瓶中,加乙酸乙酯30 ml,超声(功率:220 W,频率:40 kHz)40 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣用1%冰醋酸甲醇溶液溶解,并转移至5 ml量瓶中,定容,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取天王补心丸制备工艺缺当归、酸枣仁,其余成分均按处方量称取的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

2.2.4 空白溶液 取冰醋酸1 ml加甲醇99 ml,混匀,即得。

2.3 系统适用性试验

精密吸取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液、空白溶剂各20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果表明,在阿魏酸对照品色谱峰相应的位置上,供试品色谱图中显示相同保留时间的色谱峰,而阴性对照溶液在此保留时间无色谱峰出现,阴性对照溶液无干扰;阿魏酸峰的理论板数为7 221,阿魏酸峰与相邻杂质峰的分度为2.0,表明该方法系统适用性良好。

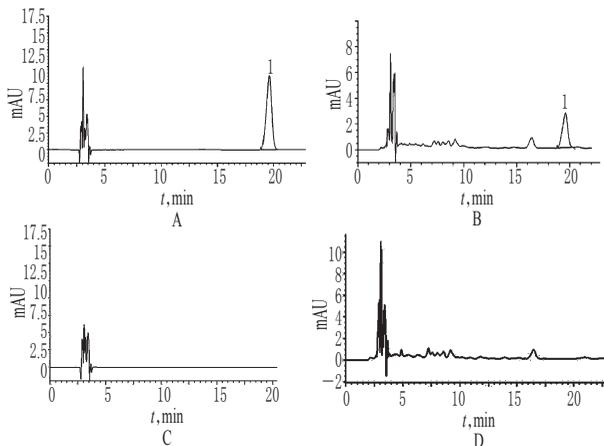


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.空白溶剂;D.阴性对照;1.阿魏酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference; B.test sample; C.blank solvent; D.negative control; 1.ferulic acid

2.4 标准曲线的制备

精密称取阿魏酸对照品适量,用1%冰醋酸甲醇溶液溶解制成阿魏酸的质量浓度为0.228 mg/ml的贮备液;用1%冰醋酸甲醇溶液分别稀释制成质量浓度为0.0912、0.228、0.456、0.912、2.28 μg/ml的溶液。取上述溶液20 μl,注入液相色谱仪,记录色谱,以质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐

标进行线性回归,得回归方程为 $y=434.35x-6.7576$ ($r=0.9998$),表明阿魏酸质量浓度在0.0912~2.28 μg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取质量浓度为0.456 μg/ml的对照品溶液20 μl,注入液相色谱仪,连续进样6次,计算峰面积的RSD为0.1%,结果表明,仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一天王补心丸供试品(批号:20130528)溶液,置于室温下,分别于放置0、2、4、8、12、24 h时,按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积。结果,阿魏酸峰面积的RSD为1.1%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批天王补心丸(批号:20130528)细粉,平行取样6份,每份约3.0 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算阿魏酸的含量,结果阿魏酸平均含量为0.38 μg/g,RSD为0.5%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取天王补心丸(批号:20130528)细粉9份,每份约1.5 g,置于锥形瓶中,分别加对照品溶液2.0、2.5、3.0 ml,照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果详见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

称样量,g	样品含量,μg	加入量,μg	测得量,μg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
1.502 6	0.571 0	0.456 0	1.019 8	98.42		
1.505 5	0.572 1	0.456 0	1.024 0	99.10		
1.501 3	0.570 5	0.456 0	1.021 4	98.88		
1.504 3	0.571 6	0.570 0	1.134 8	98.81		
1.504 8	0.571 8	0.570 0	1.137 3	99.21	98.96	0.26
1.503 5	0.571 3	0.570 0	1.135 6	99.00		
1.507 2	0.572 7	0.684 0	1.250 5	99.09		
1.506 1	0.572 3	0.684 0	1.248 8	98.90		
1.505 4	0.572 1	0.684 0	1.251 0	99.25		

2.9 样品含量测定

取天王补心丸3批,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,按外标法计算含量,结果详见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

批号	阿魏酸含量,μg/g
20130528	0.38
130003	0.41
120002	0.42

3 讨论

3.1 流动相的选择

笔者使用甲醇-0.1%冰醋酸溶液不同比例作为流动相,结果出现分离效果不好,或保留时间太长,或阿魏酸峰峰形不理想等问题。亦尝试使用乙腈-0.1%冰醋酸溶液不同比例作为流动相,发现仍存在上述问题。采用乙腈-1%冰醋酸溶液(15:85, V/V)为流动相时,分离效果满意,保留时间适中。

3.2 提取溶剂的选择

阿魏酸溶于热水、乙醇及乙酸乙酯。前面2种溶剂经济环

气相色谱法测定三氯蔗糖中的甲醇残留量

吴静芳*(广州市药品检验所,广州 510160)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3005-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.46

摘要 目的:建立测定三氯蔗糖中甲醇残留量的方法。方法:采用顶空毛细管气相色谱法。色谱柱为DB-624毛细管色谱柱,柱温采用程序升温(初始温度35℃,保持5min,以50℃/min升温至200℃,保持5min),检测器为氢火焰离子化检测器。进样口温度为220℃,检测器温度为250℃,载气为氮气,流速为2.0ml/min,分流比为10:1,顶空温度为80℃,平衡时间为30min,进样量为1ml。结果:甲醇质量浓度在98.99~296.96μg/ml范围内与峰面积比值呈良好的线性关系($r=0.9999$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 2.16\%$;平均加样回收率为100.20%,RSD为0.48%($n=9$)。三氯蔗糖最低检测限为1.39μg/ml。3个厂家样品中有1个厂家的甲醇残留量为3.12μg/ml,另2个厂家的甲醇残留量低于最低检测限。结论:该方法简便、快捷,适用于三氯蔗糖中甲醇的残留量测定。

关键词 气相色谱法;三氯蔗糖;甲醇;残留量

Determination of Residual Methanol in Sucralose by Gas Chromatography

WU Jing-fang(Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of residual methanol in sucralose. METHODS: Headspace capillary GC method was adopted. The determination was performed on DB-624 capillary column by temperature programming (initial temperature of 35℃, maintaining for 5 min, then raising to 200℃ at a rate of 50℃/min, maintaining for 5 min), the detector was FID. The temperature of the injector was maintaining at 220℃ and that of detector at 250℃, carrier gas was nitrogen gas at the flow rate of 2.0 ml/min, the split ratio was 10:1, headspace temperature was 80℃ and equilibrium time was 30 min, and the volume was 1 ml. RESULTS: The linear range of methanol was 98.99-296.96 μg/ml($r=0.9999$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all no more than 2.16%; the average recoveries were 100.20%(RSD=0.48%, $n=9$). The limit of detection (LOD) of sucralose was 1.39 μg/ml. In samples from 3 manufacturers, the contents of residual methanol in one manufacturer were 3.12 μg/ml, and the other two were lower than LOD. CONCLUSIONS: This method is simple and fast, and suitable for the determination of residual methanol in sucralose.

KEYWORDS Gas chromatography; Sucralose; Methanol; Residual

保、操作方便。笔者分别尝试使用热水和乙醇为提取溶剂,结果发现供试品色谱图中杂质峰非常多,阿魏酸峰无法和杂质峰分离,无法进行定量分析。采用乙酸乙酯作提取溶剂时,避免了大量强极性物质被提取出来,杂质峰较少,主峰与杂质峰的分度度好,有利于阿魏酸的定量分析。

3.3 对照品溶液溶剂的选择

阿魏酸有顺式和反式两种异构体,反式阿魏酸为阿魏酸成分的主要存在形式^[9],其顺反异构体之间可以相互转换。在溶剂中加入少量的冰醋酸,可以有效抑制反式阿魏酸向顺式阿魏酸转换。为了使阿魏酸溶液更加稳定,本文选择1%冰醋酸甲醇溶液作为溶剂。

综上所述,本方法简单、精确、可靠,可作为天王补心丸中阿魏酸的质量控制方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:515.
- [2] 何新荣,刘萍,孙艳.HPLC-ELSD测定天王补心丸中酸枣仁皂苷A的含量[J].中国医院用药评价与分析,2011,11

(10):910.

- [3] 孙裕,王莲萍,杨玉华.HPLC法测定天王补心丸(浓缩丸)中丹酚酸B的含量[J].卫生职业教育,2010,28(22):91.
- [4] 孙雪.HPLC法测定天王补心丸丹参中丹参素钠的含量[J].中国药物经济学,2014(2):35.
- [5] 薛改进,赵云丽,郝杰,等.HPLC法同时测定抗敏颗粒中芍药苷、毛蕊异黄酮苷和阿魏酸的含量[J].中国药房,2010,21(23):2168.
- [6] 李成义,王延惠,魏学明,等.HPLC测定不同产地当归中阿魏酸的含量[J].西部中医药,2012,25(1):34.
- [7] 贺云彪,刘军,伍良知.高效液相色谱法测定当归养血丸中阿魏酸含量[J].中国现代药物应用,2010,4(16):21.
- [8] 李琰,徐丽珍,林佳,等.不同产地当归中阿魏酸的含量比较[J].中国药学杂志,2003,38(11):22.
- [9] 丁明玉,马帅武,刘德麟.阿魏酸的稳定性及其在川芎和当归药材中的存在形式[J].中草药,2004,35(1):32.

(收稿日期:2015-01-14 修回日期:2015-02-03)

(编辑:余庆华)

* 主管药师,硕士。研究方向:化学药品检验。电话:020-26282199。E-mail: wujingfang325@126.com