DOI:10.19789/j.1004-9398.2015.04.011



# HPLC 法测定黄精丸中阿魏酸的含量

张 颖 王英锋* 郝 睿 李天一 祝 翔
(首都师范大学化学系分析测试中心, 北京 100048)

**摘 要**

**目的:** 建立了 HPLC 测定黄精丸中阿魏酸含量的方法. **方法:** 用 Aglient TC-C18(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,0~15 min,乙腈-0.085%磷酸溶液(20∶80)为流动相,流速为 1 mL·min$^{-1}$,检测波长为 316 nm,柱温 35 ℃,进样体积 10 μL,应用安捷伦 1200 系列液相色谱仪进行测定. **结果:** 阿魏酸与其他成分分离良好,在 0.0129 μg~0.1161 μg 范围内呈良好的线性关系($r$=0.999 998),平均回收率($n$=6)为 99.96 %. **结论:** 该方法简便、准确,重复性好,可用于测定黄精丸中阿魏酸含量.

**关键词:** 高效液相色谱,黄精丸,阿魏酸.
**中图分类号:** R284.1

黄精丸是由当归黄精 2 味组成的中成药,具有补气养血等功效,用于气血两亏,身体虚弱,腰腿无力,倦怠少食. 其中黄精具有补气养阴,健脾润肺,延年驻颜之功[1];当归性甘、辛,温. 归肝、心、脾经. 为伞形科植物的干燥根,是临床常用中药,有活血调经、润肠止痛之功效[2],当归含有内酯类、生物碱类、有机酸类或酚类以及中性油类等多种成分[3].

在 2010 年版中国药典一部中,阿魏酸作为当归质量控制的指标成分. 本文采用 HPLC 的方法测定黄精丸中的阿魏酸含量.

## 1 仪器、试药及样品

Agilent 1200 高效液相色谱仪,Agilent 1260 DAD 检测器,Agilent 1200 Als 自动进样器,Agilent ChemStation 工作站; 分析天平(北京 Sartorious 仪器有限公司); KQ-500 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司).

对照品阿魏酸(批号 110773-201012)购买于中国食品药品检定研究院,水为超纯水,乙腈为 HPLC 级(赛默飞世尔科技有限公司),磷酸为分析纯(北京化工厂).

黄精丸 3 批(批号: 13010113、13010114、13010115)市售.

**收稿日期:** 2014-09-24

* **通讯作者:** E-mail: wangyf@mail.cnu.edu.cn

## 2 溶液的配制

### 2.1 对照品溶液

精密称取含量为 99.6% 阿魏酸对照品 12.90 mg,置 1 000 mL 容量瓶中,加甲醇适量使其溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(0.0129 mg·mL$^{-1}$).

### 2.2 供试品溶液

取本品大蜜丸,剪碎,取 0.4 g,精密称定,加等量的硅藻土研碎,过 40 目筛,混合均匀,置圆底烧瓶中,精密加 70% 甲醇 20 mL,称定重量,加热回流 30 min,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,静置,取上清液滤过,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得.

### 2.3 阴性样品溶液

按处方配比,取除当归的黄精药材,粉碎成细粉,过 40 目筛,按“2.2”项下方法配制出对照品溶液.

## 3 色谱条件

**色谱柱:** Aglient TC-C18(4.6 mm×250 mm,5 μm)分析柱; **流动相:** 以乙腈-0.085%磷酸溶液(20∶80); **检测波长** 316 nm; **柱温** 35 ℃; **流速流速** 1.0 mL·min$^{-1}$; **进样量:** 10 μL.



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

在上述色谱条件下,精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10μL,分别注入色谱仪,结果表明样品中其他成分对阿魏酸的测定无干扰,见图 1.

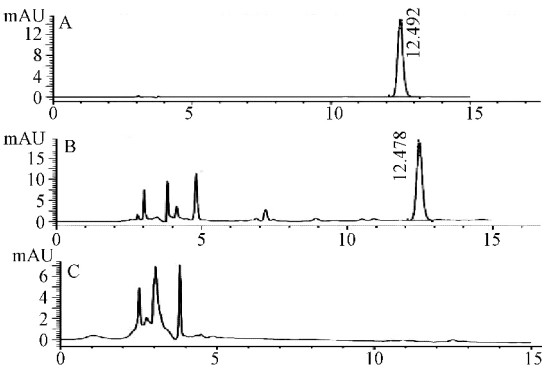



图 1　色谱结果图

A: 对照品; B: 样品; C: 阴性样品

## 4　方法学考察

### 4.1　线性关系的考察

分别吸取 0.0129 mg·mL$^{-1}$ 对照品溶液 1,3,5,7,9 μL,注入液相色谱仪,以进样量(μg) 对色谱峰面积积分值($Y$) 作标准曲线,并进行回归,计算得回归方程为:

$Y = 3\,173.381\,395X - 0.286\,500$　$r = 0.999\,998$

结果表明阿魏酸进样量在 0.0129 μg ~ 0.1161 μg 的范围内峰面积呈良好线性关系.

### 4.2　稳定性试验

精密称取黄精丸供试品(批号 13010113) 0.400 9 g,照"2.2"项下方法,分别在 0、1、3、5、8、12、24 h 进样测定,以峰面积计算,阿魏酸峰面积的 RSD 为 0.99%,结果表明黄精丸自制备在 24 h 内稳定.

### 4.3　精密度试验

取同一批号的黄精丸样品(批号 13010113) 1 份,按"2.2"项下方法制备和测定,含量测定方法按拟定的色谱条件连续进样 6 次,以峰面积计算,RSD 为 0.56%,小于 3%,精密度良好.

### 4.4　重复性试验

取同一批号的黄精丸样品(批号 13010113) 6 份,按"2.2"项下方法制备和测定,含量测定方法按拟定的色谱条件进行测定,测得阿魏酸的平均含量($n = 6$) 为 2.3121 mg·丸$^{-1}$,RSD 为 0.19%,结果表明重复性良好.

### 4.5　加样回收率试验

称取已知含量的同一批黄精丸样品(批号 13010113,阿魏酸含量为 0.255 3 mg·g$^{-1}$) 6 份,每份约 0.2 g 精密称取,分别精密加入阿魏酸对照品溶液 56.55 μg,按正文供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,按正文色谱条件测定其含量,结果平均回收率($n = 6$) 为 99.96%,RSD 为 2.70%,表明本实验具有良好的回收率.

## 5　样品含量测定

精密称取黄精丸样品 3 批,每批两份,按"2.2"项下方法制备供试溶液,按拟定的色谱条件进行测定. 按外标法计算阿魏酸的含量,结果见表 1.

表 1　样品测量结果

| 批号 | 平均含量 /mg·丸$^{-1}$ |
|---|---|
| 13010113 | 2.311 6 |
| 13010114 | 2.310 5 |
| 13010115 | 2.309 5 |

## 6　讨　论

不同的提取方法,溶剂及提取时间对实验结果有着较大影响. 本实验对不同的提取方法(超声提取、回流提取)、提取时间(20 min、30 min、40 min) 及溶剂(100% 甲醇、70% 甲醇) 进行了考察,实验结果显示,回流加热提取率高,70% 甲醇比 100% 甲醇提取的含量要高,回流加热提取 30 min,40 min 的含量比回流加热提取 20 min 的含量高,但回流加热提取 30 min 与 40 min,信号已无差别,所以提取工艺选择回流加热时间为 30 min,提取溶剂为 70% 甲醇.

采用中国药典方法以乙腈-0.085% 磷酸溶液(20∶80) 为流动相对阿魏酸进行 HPLC 法测定,分离较好,基线较低,节省了时间与溶剂,保持了柱效的稳定性,分离较理想.

本法用 HPLC 法测定黄精丸中阿魏酸,样品处理方法简单,稳定,重复性良好,可用于黄精丸药丸的质量控制.



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

## 参 考 文 献

[1] 魏宪纯,李明杰,张春蕾. 九转黄精丸对衰老小鼠皮肤及血清中脂褐质含量影响的研究[J]. 中医药信息,2009,26(6):51 - 52.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 第一部. 北京: 中国医学科技出版社,2010:124.
[3] 杨帆,肖远胜,章飞芳,等. 当归化学成分的 HPLC-MS/MS 分析[J]. 药学学报,2006,41(11): 1078 - 1083.

# HPLC Determination of Ferulic Acid in Huangjing Pills

Zhang Ying Wang Yingfeng Hao Rui Li Tianyi Zhu Xiang

(Analysis and Testing Center, Capital Normal University, Beijng 100048)

**Abstract**

A simple and quick method is described for the determination of Ferulic Acid in Huangjing Pills. Ferulic Acid in the sample was extracted using reversed-phase high performance liquid chromatography(HPLC). Chromatography separation was performed using Agilent 1200 series HPLC system with a Aglient TC-C18 column and gradient elution with a mixture of two solvents: solvent A, acetonitrile, solvent B, 0.085% phosphoric acid. 0 to 15 min A: B (20:80). The effluent was monitored using a VWD detector set at 316 nm. The flow rate was set at 1 $mL \cdot min^{-1}$ and the injection volume was 10 μL. The column temperature was maintained at 35℃. Ferulic Acid was well separated and the linearity was obtained with in the range of 0.012 9 μg ~ 0.116 1 μg ($r = 0.999\ 998$); The average recovery ($n = 6$) was 99.96%. The method is simple, accurate, reproducible, and can be used for determination of Ferulic Acid in Huangjing Pills.

**Key words:** HPLC, Huangjing Pills, ferulic acid.



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net