

HPLC 法测定复方酸枣仁软胶囊中阿魏酸和五味子甲素

殷之武, 李娟阁

浙江尖峰药业有限公司, 浙江 金华 321000

摘要: 目的 研究采用 HPLC 法测定复方酸枣仁软胶囊中阿魏酸和五味子甲素的方法。方法 阿魏酸定量测定的色谱条件: 色谱柱为迪马公司 C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-1%醋酸水溶液 (35:65), 检测波长为 320 nm, 体积流量为 1 mL/min, 柱温为室温, 进样量为 10 μL; 理论塔板数按阿魏酸峰计不低于 3 000; 五味子甲素定量的色谱条件: 色谱柱为迪马公司 C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (77:33), 检测波长为 254 nm, 体积流量为 1 mL/min, 柱温为室温, 进样量为 10 μL。结果 阿魏酸的线性范围 9.8~49.0 μg/mL ($r=0.999\ 6$); 加样回收率试验 RSD 为 1.98%; 五味子甲素的线性范围 8.8~44.0 μg/mL ($r=0.999\ 9$); 加样回收率试验 RSD 为 0.98%。结论 本方法准确、简便、可靠, 可作为复方酸枣仁软胶囊质量控制的方法。

关键词: 复方酸枣仁软胶囊; 阿魏酸; 五味子甲素; HPLC; 质量控制

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)10-1961-03

Determination of ferulic acid and deoxyschisandrin in Compound *Ziziphi Spinosae Semen* Soft Capsule by HPLC

YIN Zhi-wu, LI Juan-ge

Zhejiang Jianfeng Pharmaceutical Co., Ltd., Jinhua 321000, China

Key words: Compound *Ziziphi Spinosae Semen* Soft Capsule; ferulic acid; deoxyschisandrin; HPLC; quality control

复方酸枣仁软胶囊是根据我国“金匱要略”中的酸枣仁汤,“摄生秘剂”中的天王补心丹,《中国药典》2005年版一部“安神补心丸”等进行化裁组合优选而成的中药新复方制剂。方中酸枣仁养肝、宁心、安神、敛汗,为方中之君药^[1-2];黄芪补心气、气旺则阴血自生;当归养心血、润燥,两药合用益心气、养心血,共为复方中臣药;佐以柏子仁养心安神、交通心肾;五味子益气敛阴、助气生阴,作为复方中使药。五味药配合应用,具有解表除烦、养心安神、镇静助眠、补肾滋阴、宁心定志等功效。用于治疗心脾两虚、心肾不交、营血亏虚、精神不安、失眠健忘、虚烦不眠、夜寝梦多等症。本方中当归气香善走,是“血中气药”,当归主要有效成分是阿魏酸;五味子补肾宁心,主要有效成分是五味子甲素。为了保证本制剂的安全、有效、质量可控,本实验采用 HPLC 法对当归中阿魏酸和五味子中五味子甲素(去氧五味子素, deoxyschisandrin)进行

定量测定的方法学研究。

1 仪器与材料

美国 Waters 公司高效液相色谱仪、Waters 515 泵、2487 双波长紫外检测器;阿魏酸(中国药品生物制品检定所,批号 20098298,质量分数 99.55%),五味子甲素(中国药品生物制品检定所,批号 20091088,质量分数 99.64%),复方酸枣仁软胶囊(批号 20090820、20090822、20090824, 0.55 g/粒,浙江尖峰药业有限公司中试室研制),甲醇为色谱纯,水为双重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 测定阿魏酸的色谱条件^[3-4] 色谱柱为迪马公司 C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-1%醋酸水溶液 (35:65), 检测波长 320 nm, 体积流量 1 mL/min, 柱温为室温, 进样量 10 μL, 理论塔板数按阿魏酸峰计不得低于 3 000。

收稿日期: 2012-02-02

作者简介: 殷之武 (1968—), 工程师, 主要从事新药研究开发。Tel: (0579)82303591 E-mail: jyssw@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-09-07 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120907.1017.001.html>

2.1.2 测定五味子甲素的色谱条件 色谱柱为迪马公司 C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (77:33), 检测波长为 254 nm, 体积流量 1 mL/min, 柱温为室温, 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 阿魏酸对照品溶液的制备 取阿魏酸约 5 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 制成含阿魏酸 98.0 μg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 五味子甲素对照品溶液的制备 取五味子甲素约 5 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成含五味子甲素 88.0 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 阿魏酸供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相适量, 使充分溶解, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液待用, 即得供试品溶液。

2.3.2 五味子甲素供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物, 混匀, 取约 0.55 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相适量, 使充分溶解, 用

流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液待用, 即得供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方比例分别制备不含当归和五味子的阴性对照样品, 照供试品溶液的制备方法, 分别制得阴性对照溶液。

2.5 系统适应性试验

2.5.1 阿魏酸定量测定方法的系统适应性试验^[5]

精密量取阿魏酸对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪中, 从色谱图可见, 对照品溶液与供试品溶液色谱图在相应位置上有保留时间相同的色谱峰, 而阴性对照溶液(缺当归)在相应位置上无吸收峰(图 1), 复方酸枣仁软胶囊中的其他成分对阿魏酸的测定无干扰, 以阿魏酸峰计算理论塔板数不少于 3 000。

2.5.2 五味子甲素定量测定方法的系统适应性试验^[6]

精密量取五味子甲素对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪中, 从色谱图可见, 对照品溶液与供试品溶液色谱图在相应位置上有保留时间相同的色谱峰, 而缺五味子阴性对照溶液相应位置上无吸收峰(图 2), 复方酸枣仁软胶囊中的其他成分对五味子甲素的测定无干扰,

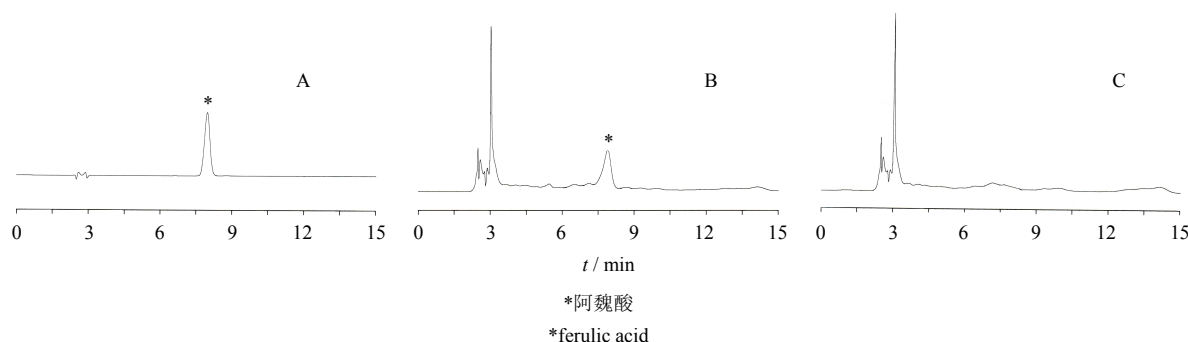


图 1 阿魏酸对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of ferulic acid reference substance (A), sample (B), and negative control (C)

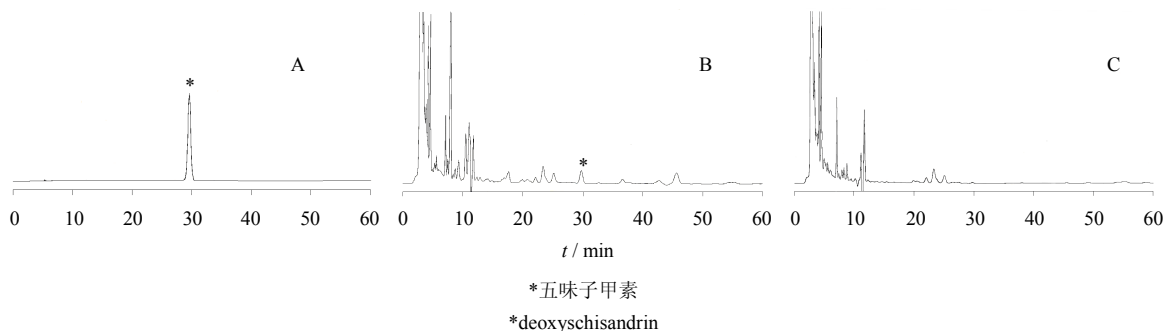


图 2 五味子甲素对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of deoxyschisandrin reference substance (A), sample (B), and negative control (C)

以五味子甲素峰计算,理论塔板数不低于3 000。

2.6 线性关系考察

2.6.1 阿魏酸 分别精密量取阿魏酸对照品溶液1、2、3、4、5 mL,置10 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀得9.8、19.6、29.4、39.2、49.0 $\mu\text{g/mL}$ 系列对照品溶液。分别精密吸取10 μL ,连续进样2次,测定峰面积,计算平均值,以峰面积为纵坐标(Y)、质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程 $Y=12\,227.4X+12.486\,9$, $r=0.999\,6$,表明阿魏酸在9.8~49.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.6.2 五味子甲素 分别精密量取五味子甲素对照品溶液1、2、3、4、5 mL,置10 mL量瓶中,用甲醇配制成8.8、17.6、24.4、35.2、44.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液,分别注入液相色谱仪中,各进样2次,每次10 μL ,测定峰面积,计算平均值。以峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程 $Y=8\,551.4X+2.941\,8$, $r=0.999\,9$,表明五味子甲素在8.8~44.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.7 精密密度试验

2.7.1 阿魏酸 精密量取19.6 $\mu\text{g/mL}$ 阿魏酸对照品溶液,按色谱条件连续进样5次,每次10 μL ,测定峰面积,计算得其RSD为0.99%。

2.7.2 五味子甲素 精密量取17.6 $\mu\text{g/mL}$ 五味子甲素对照品溶液,按色谱条件连续进样5次,每次10 μL ,计算得其RSD为0.49%。

2.8 稳定性试验

取批号为20090820的样品,制备供试品溶液,分别在0、1、2、4、8、12 h进样10 μL ,测定阿魏酸、五味子甲素的色谱峰面积,计算阿魏酸峰面积的RSD为2.1%,五味子甲素的RSD为0.49%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.9 重复性试验

取批号为20090820样品,制备5份供试品溶液,分别测定阿魏酸、五味子甲素的峰面积,计算阿魏酸和五味子甲素质量分数,阿魏酸的RSD为1.2%,五味子甲素的RSD为1.5%。

2.10 加样回收率试验

2.10.1 阿魏酸 称取批号为20090820样品6份,精密称定,每份0.5 g,分别置10 mL量瓶中,分别精密加入19.6 $\mu\text{g/mL}$ 阿魏酸对照品溶液0.10、0.10、0.15、0.15、0.20、0.20 mL,用流动相稀释至刻度,

按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,各精密吸取10 μL ,注入液相色谱仪中,按测定方法色谱条件测定,计算回收率,结果阿魏酸的平均回收率为100.48%,RSD为1.98%。

2.10.2 五味子甲素 称取批号为20090802样品6份,精密称定,每份0.25 g,分别置10 mL量瓶中,分别精密加入17.6 $\mu\text{g/mL}$ 五味子甲素对照品溶液1.0、1.0、3.0、3.0、5.0、5.0 mL,用甲醇稀释至刻度,按“2.3.2”项下方法制备供试品液,各精密吸取10 μL 和对照品溶液(22.0 $\mu\text{g/mL}$)10 μL ,注入液相色谱仪,按色谱条件测定,计算回收率,五味子甲素的平均回收率为100.52%,RSD为0.98%。

2.11 样品测定

2.11.1 阿魏酸的测定 取批号20090820、20090822、20090824的3批样品制备供试品溶液,依法测定,用外标法计算阿魏酸的质量分数分别为0.026、0.025、0.025 mg/g ($n=2$)。

2.11.2 五味子甲素的测定 取批号20090820、20090822、20090824的3批样品按测五味子甲素方法制备供试品溶液,依法测定,以外标一点法计算五味子甲素的质量分数分别为1.35、1.34、1.42 mg/g ($n=2$)。

3 讨论

为控制复方酸枣仁软胶囊的质量,使其达到安全、有效、质量可控;对本品中当归的有效成分阿魏酸、五味子的有效成分五味子甲素的量进行了方法学考察,对样品中的成分进行了定量测定,各项测试结果良好,方法准确、简便、可靠,可作为控制产品质量的方法。

参考文献

- [1] 李 陆,刘桂友,刘婧姝,等.基于均匀设计法对酸枣仁镇静催眠有效组分的配伍研究[J].中草药,2011,42(7):1374-1377.
- [2] 中国药典[S].一部.2010.
- [3] 王宝琴.中成药质量标准与标准物质的研究[M].北京:中国医药科技出版社,1994.
- [4] 王喜军.高效液相色谱法在中药研究中的应用[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1994.
- [5] 孙毓庆.现代色谱法及其在医药中的应用[M].北京:人民卫生出版社,1998.
- [6] 林炳承.高效液相色谱在生命科学中的应用[M].济南:山东科学技术出版社,1996.