

HPLC法同时测定蒙成药阿魏八味丸中 5种化学成分的含量

杨丹¹,李刚²,郭叶¹,边梦霓¹,杨雪苗¹,马瑞寅¹,
张雨生¹,张志勇¹,安明^{1*},邬国栋^{1*}

(1. 包头医学院,内蒙古包头 014060;2. 内蒙古医科大学药学院,内蒙古呼和浩特 010100)

摘要:目的 建立 HPLC 法同时测定蒙成药阿魏八味丸中五种活性成分(没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯、去氢二异丁香酚)的含量。方法 采用 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:甲醇(A)-0.05% 磷酸水溶液(B),流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量:10 μL,柱温 30 ℃,梯度洗脱程序:0~20 min:5%~60% A,20~45 min:60% A,45~60 min:70% A。检测波长:271 nm(没食子酸)、316 nm(阿魏酸)、280 nm(丁香酚)、225 nm(木香烃内酯)、280 nm(去氢二异丁香酚)。结果 在建立的色谱条件下,没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯、去氢二异丁香酚的质量浓度分别为 8.00~80.00、2.05~20.45、360.0~3.60×10³、40.40~404.0、8.01~80.10 mg·L⁻¹,相关系数 *r* 均大于 0.999 0;方法的加样回收率为 96.6%~102.7%,RSD≤2.07%。结论 该方法可用于蒙成药阿魏八味丸的质量控制。

关键词:阿魏八味丸;没食子酸;阿魏酸;丁香酚;木香烃内酯;去氢二异丁香酚;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号:R 917

文献标志码:A

阿魏八味丸蒙药名为兴棍-8,是蒙医常用药。该方中含有阿魏、沉香、肉豆蔻、木香、丁香、小茴香、黑云香、当归等八味药材。临床用于治疗“巴达干、赫依”引起的头疼、头晕、恶心、呕吐等病症^[1]。方中阿魏为主药^[2],具有抗炎、免疫、抗氧化的功效,主要有效成分为阿魏酸;木香^[3]具有抗炎、抗溃疡的作用,主要有效成分为木香烃内酯;肉豆蔻^[4]具有保肝、降血脂血糖的药理作用,主要有效成分为去氢二异丁香酚;丁香^[5]对中枢神经系统具有保护作用,主要有效成分为丁香酚和没食子酸。文献报道以蒙药阿魏八味丸为

主,治疗美尼尔综合症疗效显著^[6]。目前已有的该方剂质量控制方法,仅对单一的阿魏酸进行了定量^[7]。中药复方的成分复杂,单一指标评价方法难以全面反映复方的整体质量。因此,亟需建立一种高效、灵敏的分析方法对阿魏八味丸进行全面的质量控制。

本文作者采用 HPLC 法同时测定制剂中的总阿魏酸(阿魏和当归共有)、去氢二异丁香酚、木香烃内酯、丁香酚和没食子酸(化学结构式见图 1)的含量,为阿魏八味丸的质量控制提供了参考依据。

收稿日期:2019-10-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(815606,8521967017);内蒙古教育厅大学生创新创业训练计划项目(201910127008,201910127011)

作者简介:杨丹(1984-),女(汉族),内蒙古包头人,硕士研究生,E-mail 1006145171@qq.com; *通信作者:安明(1972-),男(汉族),内蒙古包头人,硕士,硕士研究生导师,主要从事药物分析研究,Tel. 0472-7167795,E-mail 610283014@qq.com;邬国栋(1975-),男(汉族),内蒙古包头人,硕士,硕士研究生导师,主要从事天然药物活性成分研究,Tel. 0472-7167795,E-mail wgdzd@126.com。

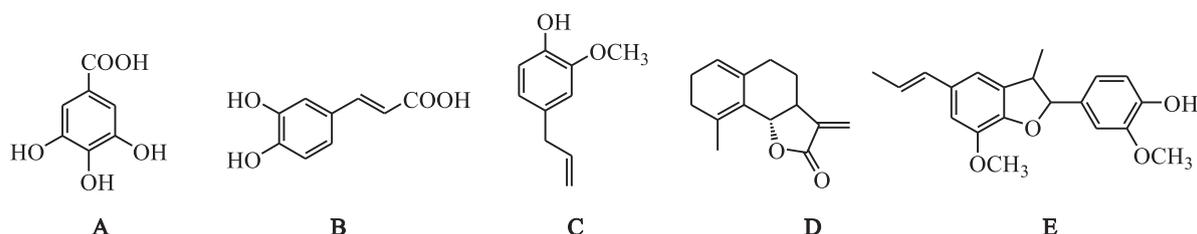


Fig. 1 Chemical structures of gallic acid (A), ferulic acid (B), eugenol (C), costunolide (D) and dehydrodiisoeugenol (E)

图1 没食子酸(A),阿魏酸(B),丁香酚(C),木香炔内酯(D),去氢二异丁香酚(E)的化学结构式

1 仪器与材料

Thermo Ultimate 3000(高效液相色谱仪配备DAD检测器,美国赛默飞世尔科技有限公司),BSA224S-CW 万分之一电子天平,SQP 十万分之一电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司),TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),GenPure UV-TOC/UF 超纯水机(美国赛默飞世尔科技有限公司),AS10200 超声波清洗仪(40/60Hz,北京华瑞博远科技发展有限公司)。

没食子酸对照品(批号110831-201605,含量质量分数90.8%)、阿魏酸对照品(含量质量分数99.0%,批号110773-201614)、丁香酚对照品(含量质量分数99.3%,批号110725-201615)、木香炔内酯对照品(含量质量分数99.5%,批号111524-201710)、去氢二异丁香酚对照品(含量质量分数99.2%,批号111838-201403)(中国食品药品检定研究院)。

甲醇(色谱纯,天津康科德科技有限公司),纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司),其他试剂均为分析纯,三批蒙药阿魏八味丸制剂(批号901271,901272和901273,由包头市蒙中医院制剂室提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适用性实验

色谱柱:Thermo Hypersil GOLD C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)柱;流动相:甲醇(A)-质量分数0.05%磷酸水溶液(B),梯度洗脱流速1 mL·min⁻¹,梯度洗脱程序:0~20 min:5%~60% A,20~45 min:60% A,45~60 min:70% A。进样量:10 μL,柱温30℃,检测波长:271 nm(没食子酸)、316 nm(阿魏酸)、280 nm(丁香酚)、225 nm(木香炔内酯)、280 nm(去氢二异丁香酚)。理论塔板数按阿魏酸计算应不低

于5 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备

取没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香炔内酯和去氢二异丁香酚对照品适量,精密称定,用甲醇配制成各对照品储备液。再精密量取上述各对照品储备液适量,用甲醇溶解,制成含200.0 mg·L⁻¹没食子酸、51.2 mg·L⁻¹阿魏酸、9.01 g·L⁻¹丁香酚、1.01 g·L⁻¹木香炔内酯和200.2 mg·L⁻¹去氢二异丁香酚的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备

取阿魏八味丸制剂30粒,研细并混匀,称取3.5 g 药物置具塞锥形瓶中,精密加入50 mL 甲醇溶解,称定重量,超声30 min后放冷,称量,用甲醇补充减失的重量,之后用5 000 r·min⁻¹的转速离心10 min,取上清液,用0.22 μm的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备

参照《内蒙古蒙成药标准》阿魏八味丸制剂质量标准项下规定^[1],制备缺阿魏、当归、丁香、木香、肉豆蔻这五味药材的阴性样品,再按“2.2.2”项下的处理方法制备阴性样品溶液。按“2.1”项下的色谱条件进样,结果显示阴性样品溶液中无待测的五种组分,表明其他组分对待测组分无影响。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性考察

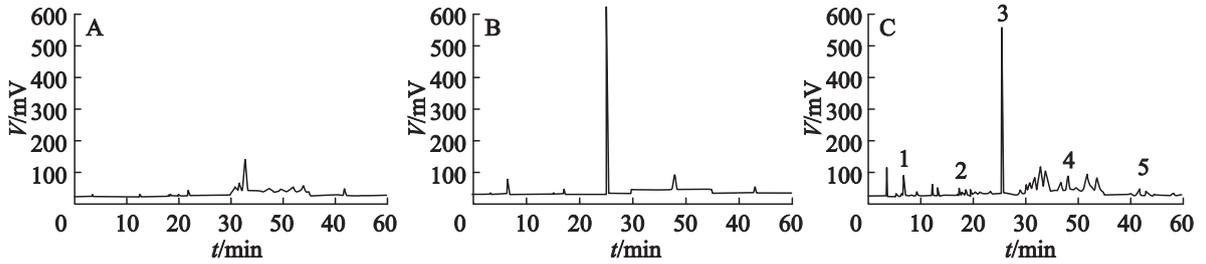
取阴性样品溶液、混合对照品溶液和供试品溶液分别按“2.1”项下的色谱条件进样,结果显示阴性样品溶液对待测组分无干扰,供试品溶液色谱图中五种待测组分散谱峰保留时间与混合对照品溶液一致,且分离度均大于1.5,结果见图1。

2.3.2 线性关系考察

精密依次吸取“2.2.1”项下的混合对照品溶液0.40、0.80、1.00、2.00、4.00 mL,分别置于10 mL量瓶中,按“2.1”项下的色谱条件进样分

析,记录没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯和去氢二异丁香酚的峰面积。以混合对照品的质量浓度(ρ , $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标,峰面积(A)为纵坐

标,绘制标准曲线,结果表明5种成分在相应的线性范围内线性关系良好,结果见表1。



A—Negative control sample; B—Standard sample; C—Test sample; 1—Gallic acid; 2—Ferulic acid; 3—eugenol; 4—Costunolide; 5—Dehydrodiisoeugenol

Fig. 2 HPLC chromatograms of determined samples

图2 测试样品 HPLC 色谱图

Table 1 Linear relationships of five components from Awei-8 Pill

表1 阿魏八味丸中5种成分的线性相关性

Component	Regression equation	r	Linear range/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
Gallic acid	$A = 0.533 \times 10^2 \rho + 1.80 \times 10^{-2}$	0.999 9	8.00 - 80.00
Ferulic acid	$A = 0.742 \times 10^2 \rho + 0.24 \times 10^{-2}$	0.999 9	2.05 - 20.45
Eugenol	$A = 0.172 \times 10^2 \rho + 0.50$	0.999 9	$360.4 - 3.60 \times 10^3$
Costunolide	$A = 0.347 \times 10^2 \rho + 1.17$	0.999 8	40.40 - 404.0
Dehydrodiisoeugenol	$A = 0.554 \times 10^2 \rho - 1.77 \times 10^{-2}$	0.999 9	8.01 - 80.10

2.3.3 精密度试验

精密吸取“2.2.2”项下的混合对照品溶液,按“2.1”项下的色谱条件分析,连续进样6次,记录各色谱峰峰面积,计算峰面积的RSD值。结果显示没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯和去氢二异丁香酚的RSD分别为0.18%, 0.15%, 0.08%, 0.18%和0.11%。表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验

取同一批次下的阿魏八味丸样品6份(批号:901271),根据“2.2.1”项下的制备方法以及“2.1”项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰峰面积,计算含量的RSD值。结果没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯和去氢二异丁香酚含量的RSD值分别为1.43%, 1.82%, 0.81%, 1.67%和1.89%。表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验

取“2.2.1”项下制备好的同一份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别于样品制备后的0, 2, 4, 6, 8, 12和24 h内进样,记录峰面积,计

算RSD值。结果没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯和去氢二异丁香酚的RSD分别为1.17%, 1.10%, 0.93%, 0.96%和2.07%。表明阿魏八味丸供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验

精密称定已知含量的阿魏八味丸制剂(批号901271)1.75g,共9份,分3组,分别置具塞锥形瓶中。再精密加入浓度为 $0.802 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的没食子酸对照品、 $0.205 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的阿魏酸对照品、 $22.53 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁香酚对照品、 $3.023 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的木香烃内酯对照品和 $0.506 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的去氢二异丁香酚对照品0.50 L、1.00 L、1.50 L。按“2.2.1”项下供试品溶液的制备方法制备加样供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行回收率测定,结果见表2。没食子酸、阿魏酸、丁香酚、木香烃内酯和去氢二异丁香酚的加样回收率的平均值分别是100.7%, 99.73%, 101.7%, 102.7%和96.6%, RSD分别为1.24%, 1.86%, 1.00%, 1.77%和2.07%。表明该方法准确性良好。

Table 2 Results of recovery ($n=9$)表2 加样回收率结果 ($n=9$)

Components	$m_{\text{original}}/\text{mg}$	$m_{\text{added}}/\text{mg}$	$m_{\text{measured}}/\text{mg}$	Recovery/%	RSD/%
Gallic acid	0.789 1	0.401 0	1.188	99.5	1.24
		0.802 0	1.607	102.0	
		1.203	1.999	100.6	
Ferulic acid	0.192 9	0.102 5	0.293 6	98.2	1.86
		0.205 0	0.396 3	99.2	
		0.307 5	0.505 8	101.8	
Eugenol	23.24	11.27	34.68	101.5	1.00
		22.53	46.41	102.8	
		33.80	57.30	100.8	
Costunolide	2.900	1.512	4.484	104.8	1.77
		3.023	5.983	102.0	
		4.535	7.499	101.4	
Dehydrodiisoeugenol	0.499 8	0.253 0	0.744 6	96.8	2.07
		0.506 0	0.987 6	96.4	
		0.759 0	1.233	96.6	

2.3.7 样品含量测定

称取阿魏八味丸制剂 3.55 g,按“2.2.2”项下的制备方法平行制备三种批号下的供试品溶液

各两份,按“2.1”项下的色谱条件进样分析,采用外标法计算各成分含量,结果见表3。

Table 3 Determination of five constituents in 3 batches of Awei-8 pill ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}, n=6$)表3 三批阿魏八味丸中5种成分含量测定结果 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}, n=6$)

Component	Batches						Average content
	901271		901272		901273		
Gallic acid	0.45	0.45	0.47	0.47	0.47	0.47	0.46
Ferulic acid	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12	0.11
Eugenol	13.18	13.33	13.63	13.58	13.92	13.77	13.57
Costunolide	1.70	1.71	1.87	1.86	1.92	1.90	1.83
Dehydrodiisoeugenol	0.28	0.29	0.30	0.30	0.31	0.30	0.30

2.4 方法耐用性考察

2.4.1 不同色谱柱保留时间的影响

本实验分别考察了三种色谱柱:Thermo Hypersil GOLD C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)、Agilent Eclipse XDB- C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)和伊利特 SinoChrom ODS-BP

C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)对保留时间的影响。取“2.2.1”项下制备好的同一份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样。各成分保留时间见表4, RSD 分别为 2.52%、1.21%、1.02%、1.97 和 1.03%。表明不同型号色谱柱条件下该方法具有良好的适应性和重复性。

Table 4 Retention time of different columns (min)**表4 不同色谱柱条件下的保留时间 (min)**

Column	Gallic acid	Ferulic acid	Eugenol	Costunolide	Dehydrodiisoeugenol
ThermoHypersil GOLD C ₁₈	6.82	17.45	25.76	39.14	53.97
AgilentEelipse XDB-C ₁₈	6.83	17.40	25.60	38.48	53.54
SinoChrom ODS-BP C ₁₈	6.53	17.06	25.25	37.63	52.88
RSD/%	2.52	1.21	1.02	1.97	1.03

2.4.2 不同柱温对保留时间的影响

实验采用 Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱系统,利用 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),按“2.1”项下的色谱条件进样“2.2.1”项下的同一供试品溶液,测定

不同柱温 15 ℃, 30 ℃, 45 ℃ 下对保留时间的影响,各成分保留时间见表 5。结果表明不同柱温条件下各成分保留时间均提前,其中在 45 ℃ 条件下,阿魏酸的色谱峰达不到分离度要求,因此本方法选择了接近室温的 30 ℃ 为测定温度。

Table 5 Retention time of different column temperature (min)**表5 不同柱温条件下的保留时间 (min)**

Column temperature/℃	Gallic acid	Ferulic acid	Eugenol	Costunolide	Dehydrodiisoeugenol
15	7.73	18.57	26.82	42.96	56.88
30	6.82	17.45	25.76	39.14	53.97
45	6.18	16.24	24.59	34.57	50.30

2.5 相对校正因子的计算

取“2.2.2”项下的混合对照品溶液,根据多点校正法原理,按“2.1”项下色谱条件分别进样 2, 4, 6, 8, 10 μL,以阿魏酸为内参物,分别计算没食子酸、丁香酚、木香烃内酯、去氢二异丁香酚的相对校正因子($f_{x/y}$),取其平均值作为定量用相对校正因子($f_{x/y}$),计算公式为 $f_{x/y} = (c_x \times A_y) /$

$(c_y \times A_x)$,其中 $f_{x/y}$ 为相对校正因子; c_x 为内参物浓度; c_y 为待测组分浓度; A_x 为内参物峰面积; A_y 为待测组分峰面积。用该方法求算以阿魏酸作为参照成分时,其它 4 种成分在不同进样量下的相对校正因子($f_{x/y}$),见表 6。结果表明 RSD 均小于 2.0%。

Table 6 Relative correction factors for different concentrations calculated with ferulic acid**表6 用阿魏酸计算的不同浓度的相对校正因子**

Sample amount /μL	Gallic acid	Eugenol	Costunolide	Dehydrodiisoeugenol
2	1.36	4.22	2.11	1.33
4	1.39	4.29	2.14	1.35
6	1.39	4.29	2.14	1.35
8	1.39	4.30	2.12	1.34
10	1.39	4.33	2.08	1.34
Mean	1.38	4.29	2.12	1.34
RSD/%	0.9	0.9	1.2	0.62

2.5.1 外标法与一测多评法(QAMS)的比较

称取阿魏八味丸制剂 3.55 g,按“2.2.2”项下的制备方法平行制备三种批号下的供试品溶液各两份,按“2.1”项下的色谱条件进样测定峰面积。采用外标法计算此供试品中没食子酸、阿魏

酸、丁香酚、木香烃内酯、去氢二异丁香酚的含量。同时采用一测多评法以阿魏酸为内参物,计算出没食子酸、丁香酚、木香烃内酯、去氢二异丁香酚的 $f_{x/y}$,用 $f_{x/y}$ 计算其含量。将二者结果进行比较,比较结果见表 7。

Table 7 Comparison of the results of the external standard method and the QAMS method

表7 外标法和一测多评法测定结果比较

Component	Methods	Batches					
		901271/(mg·g ⁻¹)		901272/(mg·g ⁻¹)		901273/(mg·g ⁻¹)	
Gallic acid	QAMS	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47
	ESM	0.45	0.45	0.47	0.47	0.47	0.47
Ferulic acid	QAMS	—	—	—	—	—	—
	ESM	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12
Eugenol	QAMS	12.97	13.27	13.57	13.53	13.87	13.70
	ESM	13.18	13.33	13.63	13.58	13.92	13.77
Costunolide	QAMS	1.71	1.72	1.72	1.87	1.93	1.91
	ESM	1.70	1.71	1.87	1.86	1.92	1.90
Dehydrodiisoeugenol	QAMS	0.28	0.29	0.30	0.29	0.31	0.30
	ESM	0.28	0.29	0.30	0.30	0.31	0.30

结果表明,2种方法测得的5种成分含量经 t 检验比较, $P>0.05$,没有显著性差异。

3 讨论

3.1 提取条件的选择

提取溶剂分别考察了甲醇溶液,20%甲醇溶液和乙醇溶液,结果显示,采用甲醇溶液提取时出峰数较多、大部分峰响应值较高;提取方式分别考察了超声提取和回流提取,结果显示,超声与回流的提取效果接近,选取简单的超声方式提取;超声时间分别考察了20、30、40 min,结果显示,超声时间30 min即可达到最高提取效率。最终确定提取条件为甲醇超声提取30 min。

3.2 检测波长的选择

阿魏八味丸中5种待测组分的紫外最大吸收波长差异较大,结合检测器和工作站的波长编辑功能,参考相关文献,采用波长切换法检测5种成分^[8-9]。检测波长:271 nm(没食子酸)、316 nm(阿魏酸)、280 nm(丁香酚)、225 nm(木香烃内酯)、280 nm(去氢二异丁香酚)。保证5种成分均在其紫外最大吸收波长处被检测,提高了检测灵敏度。

3.3 外标法与一测多评法的比较

基于目前一测多评法的独特优势,在单味药或复方处方的多指标质量控制研究中的广泛应用,本实验又选择了通过该实验条件测定内参成分和待测组分校正因子,实现基于单一对照品的

校正因子法的多指标成分的含量测定^[10-13]。从实验分析结果来看,两种方法所得的测定结果没有显著性差异。

3.4 一测多评法中内参物的选择

在一测多评的实验过程中我们发现丁香酚的色谱峰峰面积较高,即使没有对照品,在谱图中也容易识别。但考虑到阿魏酸是该制剂主药阿魏的指标性成分,并且阿魏酸的样品峰面积与其他3个峰的峰面积(除丁香酚)接近,经过《一测多评技术指导原则》^[13]的相对保留时间即峰定位的耐用性试验,表明阿魏酸符合分析要求,因此选择阿魏酸作为内参。

本实验作者建立了同时测定蒙成药阿魏八味丸中5种化学成分的高压液相色谱法,并对其方法学进行了验证。将一测多评法测定结果与同时测定的结果进行了对比分析,经 t 检验分析,没有显著性差异。该方法为蒙成药阿魏八味丸的质量控制提供了一个更加全面、合理的参考方法。

参考文献:

- [1] Department of Health of Inner Mongolia Autonomous Region, Inner Mongolia patent medicine standard [S]. Inner Mongolia Science and Technology Press, 1984:330-332.
- [2] MEI L P, WANG X Q, WANG Y H. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and toxicology of ferula [J]. Chinese Pharmacy, 2016, 27(4):534-538.

- [3] WEI H, PENG Y, MA G Y, et al. Research progress on active components and pharmacological effects of *Aucklandia* [J]. Chinese Herbal Medicine, 2012, 43(3) : 613 – 620.
- [4] MA C, XIAN S H, XIANG Y, et al. Research progress on pharmacological effects of nutmeg [J]. Chinese Modern Traditional Medicine, 2017, 19(8) : 1200 – 1206.
- [5] TU H, JIANG H M, LU J Q, et al. Advances in pharmacological studies of clove [J]. Perfume and Flavor Cosmetics, 2015(5) : 59 – 62.
- [6] BAI L, HAN Y H. 80 cases of Meniere's syndrome treated mainly with ferula Bawei pill [J]. Chinese Journal of Ethnic Medicine, 2008(6) : 14.
- [7] WANG H Y, YIN J L. Determination of ferulic acid in ferula Bawei pills by HPLC [J]. Chinese Journal of Ethnic Medicine, 2008(01) : 48 – 49.
- [8] FENG X X, SUN L. Simultaneous determination of five active components in Xiangsha Pingwei pills by HPLC wavelength switching method [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2019, 36(3) : 224 – 235.
- [9] SUN D D, ZHAN J F, QIU J. Simultaneous determination of five components in Muxiang Shunqi pills by HPLC [J]. Food and drug, 2017, 19(4) : 264 – 268.
- [10] CHEN L M, GAO H M, HU X H, et al. Establishment of a quality control method for andrographolide [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 44(4) : 730.
- [11] TIAN W, ZHEN Y Q, WANG X G, et al. Study on the applicability of one assay multiple evaluation method for the determination of multi components in *Lonicera japonica* Thunb [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine Information, 2018, 25(11) : 77.
- [12] LIU H, LEI L J, BAI Y Q, et al. Simultaneous determination of seven index components in Mongolian medicine Sanzi powder by one test multiple evaluation method [J]. Chinese Journal of Experimental Prescriptions, 2017, 23(18) : 58.
- [13] WANG Z N, QIAN Z Z, ZHANG Q W, et al. Technical guide for the establishment of one test multiple evaluation method [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 36(6) : 657 – 658.

Simultaneous determination of five components in mongolian medicine a wei-8 pill by HPLC

YANG Dan¹, LI Gang², GUO Ye¹, BIAN Mengni¹, YANG Xuemiao¹, MA Ruiyin¹, ZHANG Yusheng¹, ZHANG Zhiyong¹, AN Ming^{1*}, WU Guodong^{1*}

(1. Baotou Medical College, Baotou 014060, China; 2. Inner Mongolian medical university, Huhehaote 010100)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the simultaneous determination of five components (gallic acid, ferulic acid, eugenol, costunolide, dehydroisoeugenol) in mongolian medicine A wei-8 pill.

Method The mobile phase consisted of methanol (A)-0.05% phosphoric acid solution (B) with gradient elution on a Thermo Hypersil Gold C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The sample volume 10 μL and the column temperature 30 °C. The gradient elution procedure: 0 ~ 20 min: 5% ~ 60% A, 20 ~ 45 min: 60% A, 45 ~ 60 min: 70% A. Detection wavelength: 271 nm (gallic acid), 316 nm (ferulic acid), 280 nm (eugenol), 225 nm (costunolide) 280 nm (dehydroisoeugenol). **Results** The linear ranges of gallic acid, ferulic acid, eugenol, costunolide and dehydroisoeugenol in mongolian medicine A wei-8 pill were 8.00 ~ 80.00, 2.05 ~ 20.45, 360.0 ~ 3.60 × 10³, 40.40 ~ 404.0, 8.01 ~ 80.10 mg·L⁻¹, respectively. The correlation coefficient *r* was greater than 0.9990. The average recoveries were 96.6% ~ 102.7% and the RSD were less than or equal to 2.07%.

Conclusion The method is simple, accurate and repeatable, and it can effectively control the quality of mongolian medicine a wei-8 pill.

Key words: Awei-8 pill; gallic acid; ferulic acid; eugenol; costunolide; dehydroisoeugenol; HPLC; content determination