

· 药物分析 ·

HPLC 法测定心脑血管舒口服液中阿魏酸含量

郭涛 戴京美 丁立新 张跃新 周密* 孙毓庆*

(沈阳军区总医院药剂科 沈阳 110015)

摘要 本文建立了心脑血管舒口服液中阿魏酸含量测定方法。色谱柱: YWG-C18, 4.0×150mm; 流动相: 甲醇-水-冰乙酸(33:66:1); 流速: 1.0ml/min; UV 检测波长: 320nm。结果表明, 方法快速、准确、灵敏、重现性好。阿魏酸浓度在 0.2~1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 范围内线性关系良好($\gamma=0.9998$), 加样回收率为 96.74%, RSD=2.7%, 实际测定 10 批样品结果满意。

关键词 心脑血管舒口服液; HPLC; 阿魏酸

HPLC determination of ferulic acid in xinnao maishu oral liquid

Guo Tao, Dai Jingmei, Dign Lixin, Zhang Yaixin, Zhou Mi*, Sunqing*

(Department of Pharmacy, Shenyang Military Gen. Hosp., Shenyang 110015)

ABSTRACT The high performance liquid chromatography (HPLC) method was established for determination of ferulic acid in xinnao Maishu Oral Liquid. Chromatographic conditions were: column, YWG-C₁₈ (4.0×150mm); mobile phase, methanol-water-acetic acid (33:66:1); flow rate, 1.0ml/min; the UV wavelength used for detector was 320nm. The results proved that this method was rapid, accurate, sensitive, and reproducible. The good linear correlation was observed from the concentrations of 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ to 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ($\gamma=0.9998$), and the average recovery was 96.74%, with a relative standard deviation of 2.7%. The results of determination for 10 samples were satisfactory.

KEY WORDS ferulic acid, HPLC, Xinnao Maishu Oral Liquid

心脑血管舒口服液是我院 1991 年开始研制, 由当归、川芎、红花等组成, 用于治疗心脑血管疾病的中药复方制剂。方中有效成分含川芎总生物碱、阿魏酸(ferulic acid)等均有增加冠脉血流量、改善心肌缺血、降低外周血管阻力、抑制血小板聚集等作用^[1~3]。我们选定控制阿魏酸的含量做为本口服液的质量控制指标。目前, 阿魏酸定量多为薄层色谱扫描或紫外分光光度法^[4~6]; 近年虽有采用 HPLC 法^[7, 8], 但也仅是适用于生药当归中的

阿魏酸。本文将 HPLC 用于含多种中药成分的心脑血管舒口服液中阿魏酸的含量测定, 建立了心脑血管舒口服液质控方法, 该法灵敏度、分离度、准确度、分析速度等均优于薄层扫描法^[4], 取得了较满意的效果。

材料与方

一、仪器与试药

1. 仪器 日立 655-15 液相色谱仪; 日立 655 可变波长检测器; 日立 655-60 数据处理机。

2. 试药 阿魏酸, 化学对照品, 由中国

* 沈阳药科大学

药品生物制品检定所提供。甲醇、冰乙醇、乙酸乙酯、盐酸均为分析纯。心脑血管舒口服液，本院制剂室生产。

二、色谱条件

色谱柱：YWG-C₁₈，4.0×150mm；流动相：甲醇-水-冰乙酸（33：66：1）；流量：1.0ml/min；柱温：室温；检测波长：320nm；灵敏度：0.08AUFS。

三、含量测定方法 按照高效液相色谱法测定⁽⁹⁾

1. 系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填料；在上述条件下，理论板数按阿魏酸峰计算应不低于 1500。

2. 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品约 25mg，置 25ml 量瓶中，加甲醇使溶解并定容，摇匀；精密量取 2ml，置 10ml 量瓶中，加甲醇定容，摇匀，备用（每 1ml 含阿魏酸 0.2mg）。

3. 供试品溶液的制备 取本品 3~5 支，混匀，精密量取 20ml 置分液漏斗中，加 6mol/L 盐酸调 pH 值 1~2。用乙酸乙酯分 4 次萃取（20, 15, 15, 10ml）。合并萃取液，用

0.05mol/L 盐酸 50ml 洗涤，弃去洗液，萃取液置水浴上蒸干。残渣用甲醇溶解，定容为 25ml，即得。

4. 测定方法及结果计算 取对照品溶液与供试品溶液各 2μl，分别注入液相色谱仪，测峰面积(A)，即得。

$$\text{阿魏酸含量} = \text{阿魏酸对照品溶液 (mg/ml)} \times \frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{标}}} \times \frac{25(\text{ml})}{20(\text{ml})}$$

实验结果

一、色谱图形

用本法所得对照品、供试品、空白溶液、及供试品与空白的色谱对照图谱见图 1~4。由图可见供试品、对照品的分离度较好，空白溶液不干扰测定。

二、工作曲线与线性范围

精密吸取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5μl；按上述色谱条件测定峰面积（结果见表 1）；以峰面积积分值与阿魏酸量（μg）进行回归，求得回归方程：

$$A = 558416C - 1633.4, \quad r = 0.9998$$

表明阿魏酸在 0.2~1.0μg/μl 范围内



图 1 对照品溶液的色谱图

表 1 阿魏酸的工作曲线数据

阿魏酸量(μg)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
峰面积	112140	218644	336229	440380	559688

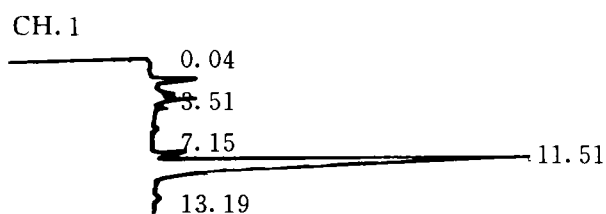


图 2 供试品溶液的色谱图

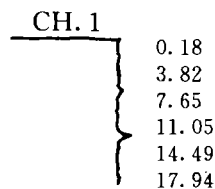


图 3 空白溶液的色谱图

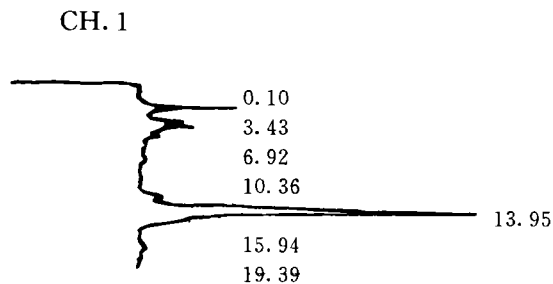


图 4 供试品与空白的色谱图对照

表 2 精密度实验结果*

进样次数	峰面积	平均值	RSD(%)
1	195798		
2	190561		
3	201328	194871	2.0
4	195232		
5	191437		

* 表内数据由一批样品(941101)测得

表 3 重现性实验结果*

瓶号	含量(mg/ml)	平均值	RSD(%)
1	0.1729		
2	0.1689		
3	0.1692	0.1673	2.5
4	0.1607		
5	0.1649		

* 所用样品同表 2

线性关系良好。

三、精密度实验

取一批样品,按含量测定项下方法制得供试品溶液,重复进样 5 次,结果见表 2。

四、重现性实验

取一批样品,精密量取 5 份,分别按含量测定项下方法操作,测定结果见表 3。

五、回收率实验

取样品一批,精密量取两份,于一份中精密加入阿魏酸储备液(浓度为 $1\text{mg}/1\text{ml}$) 2.50ml ,分别按含量测定下方法操作,并平行做 5 次,结果见表 4。

六、稳定性实验

按含量测定项下方法制备 2 批样品的供试品溶液,从配制完毕开始放置,于不同时间进样测定。结果表明,2 批供试品溶液中的阿魏酸含量在 24h 内稳定。

七、样品测定

取连续配制的 10 批样品,按含量测定项下方法操作,结果见表 5。结果表明,本法测定结果满意。可作为制剂质量控制。

讨论

一、质量控制指标的确定

原拟以川芎嗪含量测定作为心脑血管舒口服液的质控指标,由于川芎嗪在川芎中含量仅千万分之几^[10],经多种方法提取分离,均未找到理想可行的分析方法。故采用测定阿魏酸的含量为质控指标。又由于当归与川芎

表4 加样回收率实验结果

测定次数	加入量(mg/ml)	回收量(mg/ml)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1		0.1207	96.6		
2		0.1189	95.1		
3	0.1250	0.1162	93.0	96.74	2.7
4		0.1258	100.6		
5		0.1234	98.7		

表5 样品测定结果(n=4)

批号	含量(mg/ml)	RSD(%)
941101	0.1649	1.9
941102	0.1630	0.8
941103	0.1594	1.7
941104	0.1760	2.0
941105	0.1607	1.4
941106	0.1627	1.5
941107	0.1365	2.4
941108	0.1699	1.8
941109	0.1341	2.2
941110	0.1403	2.3

中均含有阿魏酸,为确保投药量,必要时可分别对两药材原料(饮片)做含量测定以辅助成药的质量控制。根据10批样品测定结果,暂定心脑血管舒口服液每1ml含阿魏酸($C_{10}H_{10}O_4$)不得少于0.1200mg。

二、色谱条件的选择

1. 流动相 曾考察过不同比例的甲醇/水,及不含冰乙酸的流动相。结果不加入冰乙酸,保留时间短,达不到分离的目的。

2. 检测波长 采用岛津UV-260型紫外分光光度计在波长200~400nm范围,对阿魏酸对照品甲醇溶液扫描,有三个吸收峰,经分析比较后选定以320nm为检测波长。

3. 分离度 按所确定色谱条件获得较理想分离度,阿魏酸峰左侧虽有一微小峰(图1,2),但不影响定量。

三、方法适应性与样品萃取可行性

1. 色谱柱的理论板数(n):

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$$

$t_R = 11.37 \text{ min}$, 纸速为10mm/min.

$W_{1/2} = 5.72 \text{ mm}$, $n = 2189$ (以阿魏酸计)。

2. 样品中阿魏酸在酸性条件下以乙酸乙酯60ml分次萃取,经实验证实第5次已使溶液中阿魏酸含量极低微,便可忽略不计。

3. 由于药材产地、采集季节及提取过程中浸泡、煎煮时间不同,都会影响阿魏酸的含量;分析中,还要克服乳化现象。这些因素都可造成各批次间相对标准偏差增大,应予以足够重视。

四、空白溶液

取红花药材适量(与处方相符),依口服液制备工艺操作^[4],提取液浓缩至20ml。以下操作同含量测定项下,即可。

参考文献

- [1]徐国钧主编,施大文副主编.生药学.第1版.北京:人民卫生出版社,1987:286,300
- [2]陈新谦,金有豫主编.新编药理学.第13版.北京:人民卫生出版社,1992:237
- [3]四川省药品标准.1992年版:178~179
- [4]宋洪涛,郭涛,迟卫国等.超滤法制备心脑血管舒口服液及临床疗效观察.药学情报通讯,1993;11(4):45~46
- [5]梁佩燃.当归注射液质量考察.中国医院药学杂志,1987;7(10):438~440
- [6]高逢喜,周用相,徐传新等.不同炮制方法对当归成分阿魏酸的影响.中国医院药学杂志,1989;9(8):363~364
- [7]陈汉平,刘素香,李桂梅等.高效液相色谱法测定当归