

# HPLC测定心痛宁喷雾剂中阿魏酸、肉桂酸的含量

黄菲\*, 杨光

(北京同仁堂科技发展股份有限公司, 北京 100079)

**[摘要]** 目的:心痛宁喷雾剂质量标准中,有对其有效成分阿魏酸和肉桂酸的含量测定要求,但为两套不同的方法。为节约检测时间和检测成本,本研究建立了以HPLC同时测定心痛宁喷雾剂中有效成分阿魏酸和肉桂酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法对有效成分进行分离并计算其含量,色谱条件为Phenomenex Luna C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)液相色谱柱,以乙腈-0.05%磷酸水溶液为流动相,梯度洗脱;检测波长290 nm,流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃。选取1批心痛宁喷雾剂样品进行方法学验证试验,后对4批心痛宁喷雾剂样品按该方法进行含量测定。结果:空白干扰试验、精密度试验、稳定性试验、重复性试验、线性关系考察、加样回收率试验均符合方法学验证试验相关要求,RSD < 3%。线性关系考察中阿魏酸、肉桂酸分别在0.025 16~0.276 76, 0.010 4~0.114 4 mg·L<sup>-1</sup>有良好线性关系,*r*分别为1, 0.999 5。两个组分均能达到基线分离,分离度>2。加样回收率试验中阿魏酸、肉桂酸的平均回收率分别为100.35%, 101.93%。结论:本方法简便、准确、重复性好,可作为该制剂质量控制的方法,且可达到节约检测时间和检测成本的目的。该方法对于中成药质量标准中多组分含量测定方法的建立具有借鉴意义。

**[关键词]** 阿魏酸; 肉桂酸; 高效液相色谱法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)02-0074-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020074

**Determine Contents of Ferulic Acid, Cinnamic Acid in Xintongning Spray by HPLC** HUANG Fei\*, YANG Guang (Beijing Tongrentang Technology Development Limited by Share Co., Ltd., Beijing 100079, China)

**[Abstract]** **Objective:** In Xintongning spray quality standard, it had the determination of requirements on the ferulic acid and cinnamic acid content, but for two sets of different methods. The method established a HPLC method for the determination of ferulic acid, cinnamic acid in Xintongning spray. **Method:** The method used high performance liquid chromatography separation and the effective components of the calculation of its content. The analysis was performed on a Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), mobile phase was acetonitrile - 0.05% phosphoric acid for gradient elution, the detection wavelength was 290 nm, the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup> and column temperature at 30℃. Selected the 1 batch of Xintongning spray samples for method validation test, and the 4 batch of Xintongning spray samples according to the method of content determination. **Result:** Blank interference test, precision test, stability test, repeatability test, linear relation test, recovery test method validation tests were in line with the relevant requirements, RSD was less than 3%. The linearities were in the ranges of 0.025 16-0.276 76 mg·L<sup>-1</sup> for ferulic acid (*r* = 1), 0.010 4-0.114 4 mg·L<sup>-1</sup> for cinnamic acid (*r* = 0.999 5), respectively. The two components were able to achieve baseline separation, separation degree greater than 2. The average recoveries were 100.35%, 101.93% for ferulic acid, cinnamic acid. **Conclusion:** The method is simple, accurate, reproducible, can be used for quality control of this preparation, and can be saved testing time and the testing cost objective. The method for the quality standard of Chinese traditional patent medicine multi group method for the determination of content of the establishment has reference significance.

**[Key words]** ferulic acid; cinnamic acid; HPLC; content determination

心痛宁喷雾剂是由肉桂、川芎和醋香附3味中药组成,具有温经活血,理气止痛的功效,主要用于

**[收稿日期]** 20140721(002)

**[通讯作者]** \*黄菲,主管药师,从事中成药新药开发研究, Tel:010-87632581, E-mail:122485809@qq.com

寒凝气滞,血瘀阻络引起的胸痹心痛,遇寒发作,舌暗或有瘀斑者<sup>[1]</sup>。其质量标准收载于国家食品药品监督管理局国家药品标准颁布件,标准编号为 WS-10565(ZD-0565)-2002-2012Z。其中含量测定项下测定的指标性成分为阿魏酸和肉桂酸,两种成分的色谱条件及供试品制备方法均不相同,造成检测时间及检测成本相对较高。有 HPLC 同时测定中成药或药材中阿魏酸和肉桂酸的报道,其中有多波长进行检测的报道<sup>[2-4]</sup>,亦有单波长进行检测的报道<sup>[6-7]</sup>。通过对心痛宁喷雾剂有效成分化学性质的研究及对阿魏酸、肉桂酸进行全波长扫描后确认,有建立单波长检测的 HPLC 方法同时测定心痛宁喷雾剂中阿魏酸和肉桂酸的可能。后进行了一系列方法学验证试验,建立的 HPLC 方法可以同时测定心痛宁喷雾剂中的阿魏酸和肉桂酸的含量,方法准确且更加简便、快速,可有效节约时间及检验成本,有利于缩短产品投入市场的周期。

## 1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 METTLER TOLEDOXP205 型 1/10 万电子天平;阿魏酸、肉桂酸对照品(中国药品食品检定研究院,批号分别为 110773-200611, 110786-200503),试剂均为分析纯,水为超纯水。

心痛宁喷雾剂(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号分别为 12101701, 12101702, 12101703, 12101704)。该 4 批样品主要用于心痛宁喷雾剂相关研究工作,为保证实验科学性,此次实验中封存批号,并随机重新编注批号为 1,2,3,4,以 1 号进行方法学考察相关试验。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),柱温 30 °C,流动相 乙腈(A)-0.05% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱:0 ~ 15 min, 84% B; 15 ~ 50 min, 79% B; 50 ~ 70 min, 84% B,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 290 nm。系统适应性试验:在上述条件下,注入供试品溶液,以阿魏酸和肉桂酸计算理论塔板数,其值均不低于 6 000,分离度均 > 2.0,符合规定。

**2.2 对照品溶液的制备** 取阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成 1 mL 含 50 μg 的溶液即得。取肉桂酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成 1 mL 含 10 μg 的溶液即得。

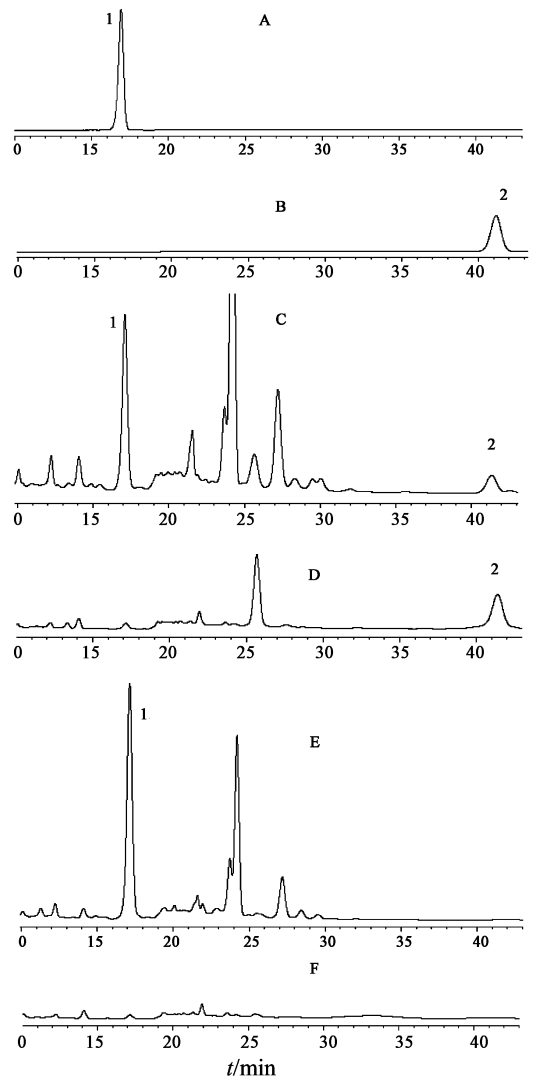
**2.3 供试品溶液的制备** 取心痛宁喷雾剂样品数支,混匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即

得供试品溶液。

**2.4 阴性样品溶液的制备** 按心痛宁喷雾剂的生产工艺制备缺川芎、肉桂的阴性制剂及缺川芎和肉桂的双阴性制剂,并按供试品溶液制备方法制备各阴性供试品溶液。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 空白干扰试验** 取阴性供试品溶液进样 10 μL,测定,结果阴性制剂对所测组分无干扰,见图 1。



A. 阿魏酸对照品; B. 肉桂酸对照品; C. 心痛宁喷雾剂供试品; D. 川芎空白对照; E. 肉桂空白对照; F. 川芎肉桂双空白对照; 1. 阿魏酸; 2. 肉桂酸

图 1 心痛宁喷雾剂 HPLC

Fig. 1 HPLC of Xintongning spray

**2.5.2 线性关系考察** 精密称取阿魏酸、肉桂酸对照品适量,加入甲醇制成质量浓度分别为 50.32, 10.4 mg·L<sup>-1</sup> 的溶液,分别以 1, 3, 5, 7, 9, 11 μL 的进样量注入液相色谱仪测定峰面积。以进样量(X)为横坐标,峰面积值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得 2

个有机酸的回归方程: $Y_{\text{阿魏酸}} = 6.107X - 5.397, r = 1$ ;  
 $Y_{\text{肉桂酸}} = 6.523X - 2.775, r = 0.9995$ 。结果表明阿魏酸、肉桂酸分别在 0.025 16 ~ 0.276 76, 0.010 4 ~ 0.114 4  $\mu\text{g}$  与其峰面积积分值呈良好线性关系。

**2.5.3 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 5  $\mu\text{L}$ , 重复进样 6 次,阿魏酸和肉桂酸的峰面积值 RSD 分别为 0.51%, 2.21%。表明此法精密度良好。

**2.5.4 重复性试验** 取样品 6 份,平行制备供试品溶液,各取 5  $\mu\text{L}$  进样,测得峰面积值,根据峰面积值计算样品中阿魏酸、肉桂酸的平均含量分别为 0.078  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 9.004  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD 分别为 0.4%, 2.5%。表明此法重复性良好。

**2.5.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液,在 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 点进样分析,测得峰面积值,计算样品中阿魏酸、肉桂酸的含量分别为 0.077  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 8.992  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD 分别为 0.3%, 0.9%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.5.6 加样回收率试验** 根据 2010 年版《中国药典》一部项下要求,在规定范围内,采用加样回收法,取同一浓度的供试品,用 6 个测定结果进行评价。阿魏酸、肉桂酸的平均回收率分别为 100.35%, 99.11%, RSD 分别为 2.1%, 2.1% ( $n = 6$ )。供试品制备方法具体如下:测定样品乙醇量为 35%,分别精密吸取 6 份相同样品 5 ~ 10 mL 量瓶中,各量瓶中分别精密加入 0.377 4  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的阿魏酸对照品 1 mL 及 104  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的肉桂酸对照品 0.5 mL,用 35% 乙醇补足至刻度,摇匀后过滤,取续滤液即得回收率供试品溶液。注入液相色谱仪,测定,根据峰面积值计算回收率,见表 1。

**2.5.7 样品的测定** 取 4 个批号的心痛宁喷雾剂样品,制备供试品溶液,每批平行 3 份,每份进样 2 次,以回归方程计算各成分的含量,其中阿魏酸 4 个批号平均分别为 0.771 3, 0.771 6, 0.769 7, 0.771 0  $\mu\text{g}/\text{支}$ , 肉桂酸 4 个批号平均分别为 76.604 6, 75.737 4, 76.354 2, 78.270 5  $\mu\text{g}/\text{支}$ 。

### 3 讨论

**3.1** 本实验建立了高效液相色谱法同时测定心痛宁喷雾剂中阿魏酸、肉桂酸含量的方法,与原质量标准中的含量测定方法比较,提高了检测效率,降低了检测时间及成本。

**3.2** 通过分别对阿魏酸、肉桂酸对照品溶液的紫外波长扫描显示,阿魏酸、肉桂酸的最大吸收波长分别为 320, 285 nm, 试验过程中发现在 290 nm 处,所需

表 1 心痛宁中阿魏酸、肉桂酸的加样回收率试验

Table 1 Recovery rate of ferulic acid, cinnamic acid in Xintongning spray

有机酸种类	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
阿魏酸	0.349 4	0.377 4	0.719 7	98.11	100.35	2.1
	0.349 4	0.377 4	0.717 5	97.52		
	0.349 4	0.377 4	0.736 4	102.53		
	0.349 4	0.377 4	0.730 4	100.97		
	0.349 4	0.377 4	0.735 3	102.25		
	0.349 4	0.377 4	0.729 4	100.70		
肉桂酸	45.092 6	52.000 0	94.967 4	95.91	99.11	2.1
	45.092 6	52.000 0	95.722 2	97.36		
	45.092 6	52.000 0	97.459 9	100.71		
	45.092 6	52.000 0	97.754 0	101.27		
	45.092 6	52.000 0	96.594 6	99.04		
	45.092 6	52.000 0	97.285 5	100.37		

注:阿魏酸、肉桂酸称样量均为 5 mg。

检验的 2 个峰分离度及峰形均较好,灵敏度也较高,所以检测波长选择 290 nm。

**3.3** 选择乙腈-0.05% 磷酸水溶液作为流动相是参考了原质量标准,并考虑到乙腈作为流动相系统压力较低。反复调整洗脱程序,最终以本研究中的梯度洗脱程序来分离样品,所检测的 2 个成分分离效果、保留时间及理论塔板数均较好。

### [参考文献]

[1] 孙丽娟,郭东兰,李传兵. 心痛宁滴丸中香附的薄层色谱鉴别及 HPLC 法测阿魏酸的含量 [J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21(7): 620-621.

[2] 王皓,狄留庆,文红梅,等. UPLC 法测定通塞脉微丸中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、肉桂酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(4): 655-658.

[3] 陶金华,狄留庆,文红梅,等. RP-HPLC 双波长梯度洗脱法同时测定通塞脉微丸中阿魏酸、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷的含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(2): 66-69.

[4] 周军,孙艳,张晶,等. HPLC 法测定十全大补糖浆中芍药苷、阿魏酸、肉桂酸及甘草酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1501-1503.

[5] 尹德忠,赵红侠,刘建勋. HPLC 同时测定胡黄连中香草酸、阿魏酸和肉桂酸 [J]. 化学与生物工程, 2007, 24(10): 75-76.

[6] 张文娟,徐媛,王庆伟. HPLC 法分析川芎-香附配伍前后指标成分的变化 [J]. 药品鉴定, 2011, 8(20): 96-97, 100.

[7] 赵欣,谷艳,宋欣鑫,等. HPLC 法同时测定当归四逆汤中 4 种有效成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(3): 200-203.

[责任编辑 邹晓翠]