

# HPLC 法同时测定抗眩晕颗粒中盐酸川芎嗪和阿魏酸

李婉晴\*, 范俊婷, 刘勇, 樊华  
(天津市南开医院, 天津 300100)

**[摘要]** 目的:建立高效液相色谱法(HPLC)同时测定抗眩晕颗粒中盐酸川芎嗪和阿魏酸的含量。方法:色谱柱为 AGT C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为甲醇-乙腈-1% 冰乙酸(1:1:5);检测波长 280 nm;流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>;柱温 25 °C。结果:盐酸川芎嗪在 0.002 4 ~ 6.900 0 μg 线性良好,  $r = 0.999 8$ ;阿魏酸在 2.040 0 ~ 58.650 0 μg 线性良好,  $r = 0.999 0$ ;盐酸川芎嗪平均回收率 98.75%, RSD 1.12%;阿魏酸平均回收率 98.45%, RSD 0.62%。结论:高效液相法可靠、准确,专属性强,重现性好,可用于该制剂质量控制。

**[关键词]** 抗眩晕颗粒;高效液相色谱法;盐酸川芎嗪;阿魏酸

**[中图分类号]** R 284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0059-03

## Determination of Tetramethylpyrazine and Ferulic Acid in Kangxuanyun Granules by RP-HPLC

LI Wan-qing\*, FAN Jun-ting, LIU Yong, FAN Hua  
(Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the contents of tetramethylpyrazine and ferulic acid in Kangxuanyun Granule. **Method:** C<sub>18</sub> Column was used with methanol acetonitrile for chromatography-1% acetic acid glacial(1:1:5) at a flow rate of 0.8 mL·min<sup>-1</sup>. The detecting wavelength was set at 280 nm. **Result:** The content of ferulic acid and tetramethylpyrazine can be determined by HPLC. The linearity of tetramethylpyrazine was good in the range of 0.002 4 ~ 6.900 0 μg,  $r = 0.999 8$ ; The linearity of ferulic acid was good in the range of 2.040 0 ~ 58.650 0 μg,  $r = 0.999 0$ . The average recovery of tetramethylpyrazine was 98.75%, RSD 1.12%, the average recovery of ferulic acid was 98.45%, RSD 0.63%. **Conclusion:** The method is simple reliable accurate and can be applied as the quantity control method of Kangxuanyun Granule.

**[Key words]** Kangxuanyun Granule; HPLC; tetramethylpyrazine; ferulic acid

抗眩晕颗粒主要由川芎、泽泻、益母草等组成,具有化痰利水,平肝熄风,活血通络的功效<sup>[1]</sup>,主要用于治疗痰浊中阻及肝阳上亢之眩晕,主治梅尼埃氏病。为了有效控制该制剂质量,采用 RP-HPLC 法,同时测定方中川芎主要成分盐酸川芎嗪和阿魏酸,建立了可靠准确、专属性强的质量控制方法。

### 1 材料

LC-10A 型高效液相色谱仪,岛津 SPD-10A 紫外检测器, AUTO SCIENCE AT-330 柱温箱, AGT C<sub>18</sub> 色

谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); RE-52 型旋转蒸发器(天津第一玻璃厂);试剂均为色谱纯,水为娃哈哈饮用纯净水;盐酸川芎嗪和阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所);抗眩晕颗粒(批号 20090218, 20090708)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** AGT C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相甲醇-乙腈-1% 冰乙酸(1:1:5);检测波长 280 nm;流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>;柱温 25 °C;进样量 20 μL。

#### 2.2 样品的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 分别精密称取盐酸川芎嗪对照品 0.60 mg、阿魏酸对照品 5.10 mg, 甲醇溶解并稀释至 10 mL, 即得对照品溶液的混合溶液

**[收稿日期]** 2009-11-30

**[基金项目]** 天津市卫生局中西医结合资助(07018)

**[通讯作者]** \* 李婉晴, Tel: (022) 23540116, E-mail: GWLWQ@126.com

(每 1 mL 含盐酸川芎嗪 60  $\mu\text{g}$ 、阿魏酸 510  $\mu\text{g}$ )，结果见图 1。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品适量，研细，取 1.0 g，精密称定，加入 25% 乙醇 80 mL，称重，超声处理 30 min，离心，以 25% 乙醇补重，精密量取 40 mL，倾入分液漏斗中，以二氯甲烷振摇提取 3 次，每次 40 mL，合并二氯甲烷液，以稀盐酸调节 pH 1.2，挥干二氯甲烷液，残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL，摇匀，即得。结果见图 1。

**2.2.3 阴性样品溶液的制备** 按处方取除川芎的各味药材，煎煮，制成阴性样品颗粒，按 2.2.2 项下方法制备阴性样品溶液，结果见图 1。

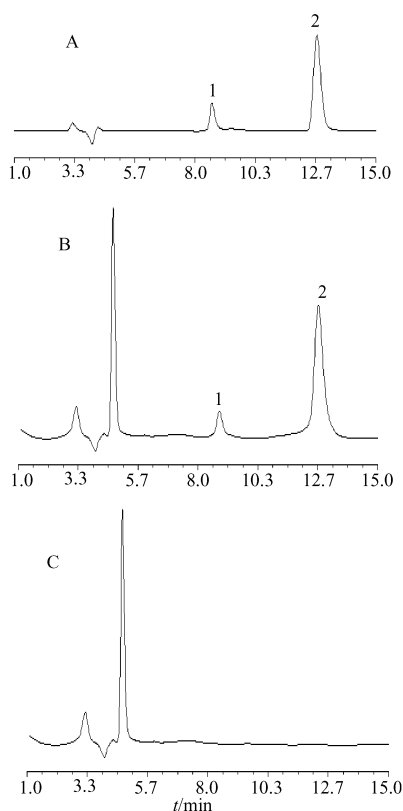


图 1 盐酸川芎嗪、阿魏酸的 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照;  
1. 盐酸川芎嗪; 2. 阿魏酸。

**2.3 标准曲线的制备** 精密吸取一定量对照品溶液，用甲醇稀释并定容，得到川芎嗪浓度为 0.002 4, 0.007 2, 0.060 0, 3.000 0, 6.900 0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；阿魏酸浓度为 2.04, 5.10, 10.20, 25.50, 58.65  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的对照品溶液的系列溶液。将上述溶液按 2.1 项下色谱条件进行测定，以盐酸川芎嗪 (Y) 对其相应浓度 (X) 做线性回归，得盐酸川芎嗪的回归方程  $Y =$

$4.64 \times 10^5 + 7.19 \times 10^2$ ,  $r = 0.999 8$ ，表明盐酸川芎嗪在 0.002 4 ~ 6.900 0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  线性关系良好；以阿魏酸 (Y) 对其相应浓度 (X) 做线性回归，得到阿魏酸的回归方程  $Y = 6.20 \times 10^4 X + 6.66 \times 10^4$ ,  $r = 0.999 0$ ，表明阿魏酸在 2.04 ~ 58.65  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  线性关系良好。

**2.4 精密度试验** 分别取同一浓度盐酸川芎嗪和阿魏酸对照品溶液 (盐酸川芎嗪 1.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；阿魏酸 12.75  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )，按 2.1 项下色谱条件连续进样 5 次，测定峰面积值，得盐酸川芎嗪峰面积 RSD 为 1.10%；阿魏酸峰面积 RSD 1.50%。

**2.5 重复性试验** 取同一批样品，精密称取 5 份，按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进行测定，得盐酸川芎嗪峰面积 RSD 为 1.40%；阿魏酸峰面积 RSD 1.18%，表明方法重复性良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液，分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 按 2.1 项下色谱条件进行测定，得盐酸川芎嗪峰面积 RSD 为 1.29%；阿魏酸峰面积 RSD 为 1.71%，表明样品在 8 h 内稳定性良好。

**2.7 回收率试验** 取同一批样品，研细，取 0.5 g，共 6 份，精密称定，加入一定量的盐酸川芎嗪和阿魏酸，按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进行测定，计算回收率，结果见表 1, 2。

表 1 盐酸川芎嗪回收率试验 (n = 5)

样品中含量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.155	0.325	99.20		
0.146	0.315	99.11		
0.158	0.327	98.88	98.75	1.12
0.146	0.308	96.85		
0.161	0.332	99.73		

注：加入量均为 0.152  $\mu\text{g}$ 。

表 2 阿魏酸回收率试验 (n = 5)

样品中含量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
40.742	74.672	98.34		
38.345	71.811	97.65		
41.541	75.966	99.00	98.45	0.62
38.345	72.894	99.13		
42.340	76.087	98.14		

注：加入均为 35.190  $\mu\text{g}$ 。

**2.8 供试品测定** 取 2 批样品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定,结果见表 3。

表 3 样品质量分数测定 ( $n=2$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

批号	阿魏酸	盐酸川芎嗪
20090218	79.899	0.302
20090708	79.885	0.311

### 3 讨论

经紫外吸收峰检测,发现阿魏酸和盐酸川芎嗪在 275 ~ 330 nm 都有吸收,所以通过在这个吸收系数之间标品连续进样,通过比较峰型和峰的面积,最终选定 280 nm 为吸收值。曾有报道<sup>[2-3]</sup>,阿魏酸和盐酸川芎嗪遇热极易损失,所以在提取制备的过程中,应尽量避免高温,以增加其含量,保证疗效。

实验中曾分别以二氯甲烷和三氯甲烷作为萃取

溶剂,比较后发现二氯甲烷的提取效果更好。

本实验建立的反相高效液相色谱法,采用一种流动相,同时测定抗眩晕颗粒中阿魏酸和盐酸川芎嗪的含量,操作简便快捷,重复性、稳定性好,结果可靠准确,可作为抗眩晕颗粒剂的质量标准控制。

### [参考文献]

- [1] 鲁红梅,岳南,林文森,等. 抗晕平冲剂的药效学试验及临床观察[J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 2001,9(6):264.
- [2] 谢秉湘,陈静. 高效液相色谱法测定妇科十味片中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(9):23.
- [3] 桂卉,肖锦仁,邹龙. HPLC 考察川芎茶调颗粒制备中川芎嗪的动态变化[J]. 中成药,2003,25(4):279.

[责任编辑 全燕]

(上接第 58 页)

为了认识熟地黄滋阴作用的活性物质,作者制定了熟地黄药材的指纹图谱,同时在相同色谱条件下测定了空白血清、含药血清的色谱,并进行了仪器精密性、稳定性、重复性的考察,均符合相关要求。

通过对药材与血清的指纹图谱叠加图发现:与空白血清色谱图(S1)比较,熟地黄高(S4)、低(S3)剂量组含药血清及六味地黄丸组血清(S2)中相对应的保留时间处均出现了一个新的色谱峰,即 1 号峰,且此峰在熟地黄药材指纹图谱中也存在。通过二极管阵列检测器的扫描,药材及含药血清中的 1 号峰的紫外吸收特征相同,可以确定为同一物质。因此,含熟地黄血清的 1 号峰可能为熟地黄吸收入血的原形成分。同时熟地黄高剂量组、熟地黄低剂量组、六味地黄丸组 3 组含药血清中 1 号峰的峰面积  $S_4 > S_3 > S_2$ ,进一步说明了熟地黄吸收入血的该

成分的多少与熟地黄给药剂量密切相关。

本研究结果表明,1 号峰为熟地黄吸收入血的原形成分,该成分可能为熟地黄养阴功效的活性成分,但其化学结构有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:83.
- [2] 黄霞. 熟地黄现代研究进展[J]. 内蒙古中医药,2004,(5):25.
- [3] 崔瑛,刘菊,冯静,等. 对中药药性研究的思考[J]. 河南中医学院学报,2008,23(4):28.
- [4] 朱莹莹,彭青,王淑云,等. 乌鳖口服液对甲亢阴虚大鼠滋阴作用的研究[J]. 中药药理与临床,2002,18(2):39.

[责任编辑 邹晓翠]