

RP-HPLC 法测定龙胆泻肝口服液中阿魏酸的含量

黄雪梅, 罗淑萍

(广西壮族自治区人民医院, 南宁 530021)

摘要: 采用反相高效液相色谱法测定该口服液中阿魏酸的含量, 以 NovarPak C₁₈ 柱为色谱柱, 流动相为甲醇-乙腈-1% 冰乙酸(24: 4: 72), 检测波长为 323nm, 柱温 35℃。阿魏酸保留时间为 12.3min, 平均加样回收率为 99.95%, RDS 为 2.22% (n= 6), 线性范围是 0.0996~ 0.747μg, r= 0.9995。该方法简便、准确, 适合龙胆泻肝口服液的质量控制。

关键词: 龙胆泻肝口服液; 阿魏酸; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2001)03-0013-02

龙胆泻肝口服液是龙胆、黄芩、当归、栀子、柴胡等数味药材经提取精制而成, 该处方源于《蓝室密藏》, 具有清肝利胆、清热利湿之功, 主治肝胆湿热, 头晕目赤, 耳鸣耳聋, 胁痛口苦, 尿赤涩痛, 湿热带下等。方中臣药当归的主要活性成分是阿魏酸(ferulic acid)。阿魏酸可明显扩张冠脉血管, 改善心肌缺血, 抑制胶原和 ADP 诱导的血小板聚集作用, 其含量测定方法文献报道有薄层扫描法^[1]、高效液相色谱法^[2~4]等。本文首次应用 RP-HPLC 法测定龙胆泻肝口服液中阿魏酸的含量。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(Waters 510 型泵, 7725i 进样阀, 486 紫外检测器, 746 数据处理仪); HP-8453 紫外-可见分光光度计(美国惠普); LDZ4-0.8 自动平衡微量离心机(北京医用离心机)。

龙胆泻肝口服液(四川×制药厂, 批号: 20000543, 20000318, 19991207); 阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0773-9708); 乙腈(色谱纯); 甲醇(优级纯), 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性 大连依利特公司 NovarPak C₁₈ 柱(4.0×250mm, 4μm); 流动相为甲醇: 乙腈: 1% 冰乙酸(24: 4: 72); 流速 0.9ml/min; 检测波长为 323nm; 灵敏度 0.05AUFS; 柱温 35℃; 柱压 1.5×1000Psi; 纸速为 0.25cm/min。理论塔板数按阿魏酸峰计应大于 10000。

2.2 供试溶液制备

2.2.1 样品溶液 精密吸取龙胆泻肝口服液 5ml

置分液漏斗中, 滴加稀盐酸调节 pH 值至 2~ 3, 摇匀, 加乙醚振摇提取 3 次, 每次 10ml, 合并乙醚提取液, 挥干, 残渣加甲醇使溶解并定容至 5ml 容量瓶中, 离心, 上清液即为样品溶液。

2.2.2 依上法制备缺当归的阴性样品溶液。

2.2.3 对照品溶液: 精密称取干燥至恒重的阿魏酸对照品 4.98mg, 用甲醇-5% 冰乙酸(1: 4) 混合溶液溶解并定容为 100ml, 摇匀, 即得每 1ml 含阿魏酸 0.0498mg。

2.3 测定波长的选择 取对照品溶液(4.98μg/ml) 在 200~ 400nm 范围内进行紫外扫描, 阿魏酸在 323nm 波长处有最大吸收, 故以 323nm 为检测波长。

2.4 干扰试验 分别吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液 10μl, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行分离, 结果样品与对照品溶液均在相同保留时间内(约为 12min) 出现吸收峰, 而阴性样品溶液在此无吸收峰出现, 见图 1。

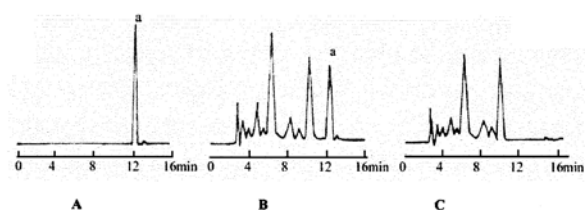


图1 HPLC 色谱图

A. 阿魏酸对照品 B. 样品 C. 空白 a. 阿魏酸峰

2.5 线性关系考察 精密吸取阿魏酸对照品溶液 2, 5, 10, 12.5, 15μl 进样, 按上述色谱条件进行测定, 结果表明进样量在 0.0996μg~ 0.747μg 范围内线性关系良好, 回归方程是 $Y = 8.774 \times 10^6 X + 3.066 \times 10^4$, $r = 0.9997$ (n= 2)。

2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10μl, 进

样,测定,重复测定6次,结果均值 $RSD = 0.19\%$ 。

2.7 稳定性试验 取样品(批号:20000318),按样品溶液的制法制备,每隔1h进行1次,分离测定,连续测定6次,结果均值 $RSD = 2.57\%$ 。

2.8 重现性试验 对同一批样品(批号:20000543),平行试验6次,分别按样品溶液制法制备,进样10 μ l,测定,计算阿魏酸的含量,结果 $RSD = 2.09\%$ 。

2.9 样品的含量测定 精密吸取不同批号的龙胆泻肝口服液5ml,分别按样品溶液制备方法制备,进样10 μ l,测定以峰面积积分值,按外标法计算含量,结果见表1。

2.10 加样回收率试验 精密量取已知阿魏酸含量的样品6份,每份3ml,分别加入一定量的阿魏酸对

表1 样品的阿魏酸含量($n = 3$)

批号	含量(μ g/ml)	RSD (%)
20000543	29.7561	1.19
20000318	29.5784	2.07
19991207	23.8898	1.68

表2 样品回收率试验结果

批号	阿魏酸含量(μ g)	加入量(μ g)	测量值(μ g)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD (%)
20000543	89.2683	89.64	181.0773	102.42	99.95	2.22
	89.2683	89.64	180.4364	101.70		
	89.2683	89.64	179.9945	101.21		
20000318	88.7352	49.8	138.3732	99.67	97.65	97.04
	88.7352	49.8	137.3668	97.65		
	88.7352	49.8	137.0599	97.04		

照品,按样品溶液项处理后,进样10 μ l,依法测定,计算阿魏酸回收率,结果见表2。

3 讨论

3.1 在已经提取3次的样品中加入乙醚10ml,再进行提取并挥干,加甲醇1ml溶解残渣,离心10min(4000r/min),吸取上清液20 μ l进样,结果未出现阿魏酸峰,说明提取已完全。

3.2 经多种比例流动相选择,认为甲醇:乙腈:1%冰乙酸=24:4:72最佳,能免除干扰,使样品中的阿魏酸分离度好,峰形尖锐。

3.3 从重现性、加样回收率等试验结果来看,本文建立HPLC法适合测定龙胆泻肝口服液中阿魏酸的含量,建议控制阿魏酸的含量应大于20 μ g/ml。

参考文献:

- [1] 朱成举,王晓华,吴宗好.薄层扫描法测定伊痛舒口服液中阿魏酸的含量[J].安徽中医学院学报,2000,19(1):53-54.
- [2] 贾晓斌,施亚芳,黄一平,等.当归和川芎中阿魏酸高效液相色谱测定方法的改进[J].中成药,1998,20(6):37-38.
- [3] 潘锡强,刘宇.HPLC测定佛手增乳膏中阿魏酸的含量[J].中成药,1998,20(11):12-13.
- [4] 杨水新,严建民,叶勇,等.RP-HPLC法测定急支糖浆中阿魏酸的含量[J].中国中药杂志,2000,25(1):54-55.