

电位滴定法测定注射用益气复脉（冻干）中总有机酸

刘一菲¹, 苏小琴^{2,3}, 李晶晶¹, 李德坤^{2,3}, 鞠爱春^{2,3*}, 叶正良^{2,3*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300402

3. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300402

摘要: 目的 建立用于测定注射用益气复脉（冻干）（YQFM）中总有机酸含量的电位滴定方法。方法 注射用益气复脉（冻干）用水溶解后, 经 001*1 阳离子交换树脂将盐还原为酸, 以琥珀酸为对照品, 用电位滴定法测定益气复脉中总有机酸的含量。结果 以琥珀酸计, YQFM 中总有机酸滴定精密度 RSD 0.42%, 稳定性 RSD 0.84%, 重复性 RSD 1.88%, 平均加样回收率 ($n=9$) 为 100.15%, RSD 1.68%。结论 本实验所建立的电位滴定方法简便易行, 可操作性强, 适用于 YQFM 中总有机酸的含量测定。

关键词: 电位滴定; 注射用益气复脉（冻干）; 有机酸; 含量测定; 质量控制

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2018) 03- 0493 - 03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.03.025

Determination of total organic acids in Yiqi Fumai Lyophilized Injection by potentiometric titration

LIU Yifei¹, SU Xiaoqin^{2,3}, LI Jingjing¹, LI Dekun^{2,3}, JU Aichun^{2,3}, YE Zhengliang^{2,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin300193, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300402, China

3. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300402, China

Abstract: Objective To establish a potentiometric titration analytical method for the determination of the total organic acids in Yiqi Fumai Lyophilized Injection (YQFM). **Methods** With butanedioic acid as reference, the total organic acids in purified YQFM were detected by potentiometric titration. **Result** The precision, stability, and repeatability of the method were very good with RSD 0.42%, 0.84%, and 1.88%, respectively. The average recovery ($n = 9$) of the method was 100.15% with RSD 1.68%. **Conclusion** The method is feasible and reproducible, which is suitable for the determination of the total organic acids in YQFM.

Key words: potentiometric titration ; Yiqi Fumai Lyophilized Injection; organic acids; content determination; quality control

注射用益气复脉（冻干）（YQFM）源于古方生脉散, 组方药物为红参、麦冬、五味子, 是一种利用现代先进工艺研制而成的新型冻干粉针剂。具有益气复脉, 养阴生津的作用, 临床主要用于治疗冠心病劳累性心绞痛、心功能不全等, 现代药理研究表明注射用益气复脉（冻干）有改善免疫低下的功效, 对 CYP2E1 有一定诱导作用, 同时可以有效改善心肌缺血再灌注损伤^[1-3]。注射用益气复脉（冻干）中主要化学成分有皂苷、木质素、糖类、有机酸

等^[4-5], 目前对于其中的皂苷、木脂素类成分已有较为成熟的检测方法^[6-8], 而对于测定其有机酸类成分, 文献中鲜有报道。当下对于制剂中的有机酸类成分测定, 文献多采用电位滴定方法^[9-12]。该方法通过电位变化确定滴定终点, 可以有效排除因中药提取液或制剂溶液颜色深重或浑浊而造成的干扰, 操作简便, 结果准确。本实验拟以琥珀酸为对照品, 采用电位滴定法测定注射用益气复脉（冻干）中总有机酸, 为其质量控制提供一些参考。

收稿日期: 2017-10-23

第一作者: 刘一菲, 女, 硕士生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: lyyy201214080081@163.com

*通信作者: 鞠爱春, 男, 高级工程师, 研究方向为中药注射剂的工艺及质量控制。Tel: (022)86342096 E-mail: juach@tasly.com

叶正良, 男, 研究员, 研究方向为中药学和药物分析研究。Tel: (022)86342066 E-mail: yezl@tasly.com

1 仪器和材料

S 210 型梅特勒 pH 计 (瑞士梅特勒公司); XS 105 型万分之一电子分析天平 (瑞士梅特勒公司); 50 mL 碱式滴定管 (天玻仪器); 6 mL SPE 空柱管及筛板 (天津博纳艾杰尔科技有限公司); Milli-Q 超纯水处理系统。

琥珀酸 (中国食品药品检定研究院, 批号 896-200001); 注射用益气复脉 (冻干) (天津天士力之骄药业有限公司, 规格为 0.65 g/瓶, 批号 20160402); 0.102 6 mol/L NaOH 标准滴定液 (天津市化学试剂研究所有限公司); 001*1 型苯乙烯磺酸型阳离子交换树脂 (天津南开允公合成技术有限公司, 批号 20160515)。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 对照品溶液配制 取适量琥珀酸, 以超纯水溶解, 配制成质量浓度为 0.36 mg/mL 的琥珀酸对照品溶液, 备用。

2.1.2 标准 NaOH 滴定液配制 精密吸取 0.1026 mol/L 的 NaOH 标准液 50 mL 置于 500 mL 量瓶中, 加入超纯水至刻度线, 摇匀, 即得 10.26 mmol/L 的标准 NaOH 滴定液。

2.1.3 供试品溶液制备 取 1 瓶 YQFM, 精密称定, 以超纯水溶解并定容至 10 mL, 过 001*1 型阳离子交换树脂柱 (经酸水-碱水-酸水处理, 水洗至中性), 体积流量 2 mL/min, 以超纯水洗脱, 合并流出液与洗脱液, 定容至 25 mL, 即得。

2.2 突跃范围实验

2.2.1 琥珀酸对照品的滴定曲线 精密吸取“2.1.1”下制备的琥珀酸对照品溶液 25 mL 于烧杯中, 以 10.26 mmol/L NaOH 滴定液, 按 (《中国药典》2015 年版一部附录 VIII A) 电位滴定法滴定。用 Origin 软件绘制 $\Delta E/\Delta V \sim V$ 电位曲线图, 滴定曲线见图 1。曲线显示滴定终点明显, 实际消耗滴定液 14.99 mL, 以公式 $[V_{\text{碱}} = 2C_{\text{酸}} * V_{\text{酸}} / C_{\text{碱}}]$ 计算, 理论消耗 NaOH 滴定液 15.07 mL, 相对偏差 0.54%, 认为二者基本吻合。

2.2.2 YQFM 中的有机酸滴定曲线 精密称取益气复脉样品 629.23 mg, 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 将得到的 25 mL 供试品溶液置于烧杯中, 按照前述方法进行测定及绘制滴定曲线。结果见图 2, 滴定终点明显, 一阶导数曲线两边分布较为对称。

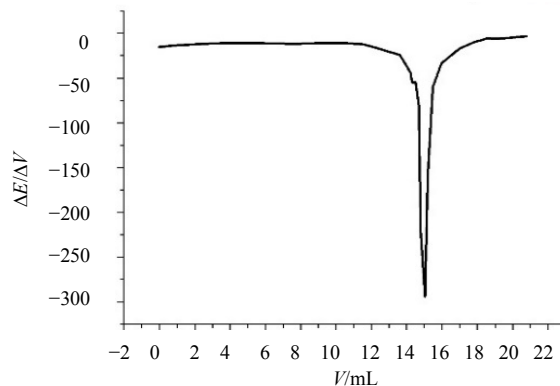


图 1 琥珀酸对照品滴定曲线

Fig. 1 Titration curve of butanedioic acid

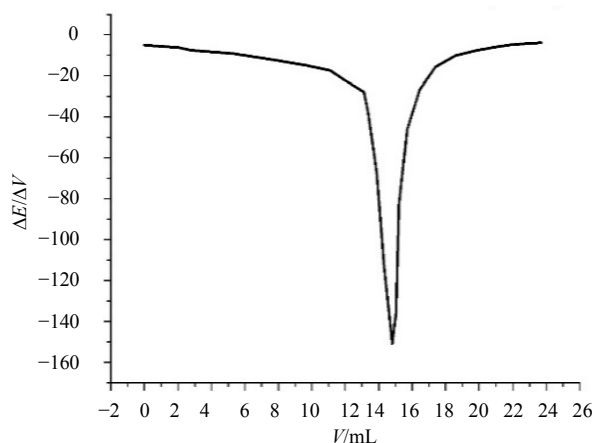


图 2 YQFM 中的有机酸滴定曲线

Fig. 2 Titration curve of organic acids in Yiqi Fumai Lyophilized Injection

2.3 精密度实验

取适量琥珀酸对照品, 以超纯水溶解, 配制成浓度为 0.986 mg/mL 琥珀酸对照品溶液。用 10.26 mmol/L NaOH 滴定液进行电位滴定, 平行 6 次。结果琥珀酸含量的 RSD 为 0.42%, 结果表明该方法精密度良好。

2.4 稳定性试验

精密称取益气复脉 (批号 20160402) 适量, 按照“2.1.3”项下制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 精密吸取 25 mL 进行电位滴定。结果总有机酸含量的 RSD 为 0.84%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.5 重复性实验

精密称取益气复脉 (批号 20160402) 适量, 按照“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 分别精密吸取 25 mL 供试品溶液, 用 10.26 mmol/L NaOH 滴定液进行电位滴定。结果总有机酸含量的

RSD 为 1.88%，表明该方法重复性良好。

2.6 加样回收率实验

精密称取已知含量的益气复脉样品（批号 20160402）9 份，每份约 325 mg，每 3 份一组，分别依次加入浓度 2.524、4.209、5.887 mg/mL 琥珀酸对照品溶液 1 mL。按照“2.1.3”项下制备供试品溶液，分别吸取供试品溶液 25 mL，用 10.26 mmol/L NaOH 滴定液进行电位滴定，计算回收率，结果回收率分别为 101.45%、100.97%、102.74%、96.6%、99.54%、99.71%、100.19%、99.63%、100.49%，平均加样回收率为 100.15%，RSD 为 1.68%，表明该方法准确度良好。

2.7 不同批次 YQFM 中有机酸测定

取 8 批益气复脉样品各约 0.65 g，按照“2.1.3”项下制备供试品溶液，平行 2 份，分别精密吸取供试品溶液 25 mL 进行测定，结果见表 1。

表 1 不同批次 YQFM 有机酸含量测定结果 (n = 2)

Table 1 Results of determination in different batches of YQFM (n = 2)

批次	有机酸/%
S1	1.47
S2	1.47
S3	1.50
S4	1.60
S5	1.54
S6	1.51
S7	1.56
S8	1.61

3 讨论

中药及其制剂中总有机酸含量测定方法最常用的即为酸碱滴定，电位滴定法是基于酸碱滴定原理，利用电位变化指示滴定终点，无需受限于指示剂选择困难等因素，有效排除溶液颜色、混浊度等造成的干扰，更为灵敏，结果更为准确，操作简单。从本实验制作的对照品及供试品溶液滴定曲线可以看出，滴定过程存在明显突跃，说明使用电位滴定法测定 YQFM 中总有机酸是可行的。

参照 YQFM 制备流程，有机酸在调节 pH 后变为有机酸盐，因此本实验先利用阳离子交换树脂对 YQFM 中的有机酸进行还原纯化，制备得到供试品溶液，进而利用酸碱滴定的原理对其中的有机酸进行含量测定。在考察 YQFM 有机酸盐还原过程中，分别对不同类型阳离子交换树脂还原能力、上样体

积、洗脱溶剂种类及用量、流速、YQFM 中辅料及其他成分对有机酸测定的影响进行了考察，最终确定 YQFM 总有机酸还原条件为：取 1 瓶 YQFM，精密称定，以超纯水溶解并定容至 10 mL，过 001*1 型阳离子交换树脂柱，流速 2 mL/min，5 BV 超纯水洗脱，合并流出液与洗脱液定容至 25 mL，即得。

YQFM 组方药物之一五味子富含有机酸，目前本实验室从五味子提取物中分离得到琥珀酸、肉桂酸、对羟基苯甲酸等有机酸，其中琥珀酸比例最大，达 1% 以上^[12]，且有关琥珀酸单体研究的实验仍在进行中。故本实验以琥珀酸为对照品测定 YQFM 中总有机酸的含量。

参考文献

- [1] 刘晓光, 胡金芳, 宋美珍, 等. 注射用益气复脉(冻干)对环磷酰胺诱导小鼠免疫低下的改善作用 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(06): 962-965.
- [2] 李挺洋, 李 潇, 周鸿杰, 等. Cocktail 法考察益气复脉对大鼠 CYP450 酶亚型活性的影响 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(09): 1046-1051.
- [3] 郑显杰, 庞力智, 韩玉潇, 等. 注射用益气复脉(冻干)改善小鼠心肌缺血再灌注损伤的作用 [J]. 中成药, 2016, 38(03): 473-480.
- [4] 乔晓莉, 肖学风, 周大铮, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定注射用益气复脉(冻干)中 13 种成分 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3402-3407.
- [5] Liu C, Ju A, Zhou D, et al. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of multiple chemical constituents in Yiqifumai Injection by ultra-fast liquid chromatography coupled with ion trap time-of-flight mass spectrometry [J]. Molecules, 2016, 21(5): 640.
- [6] 褚延斌, 苏小琴, 李德坤, 等. 基于一测多评法对注射用益气复脉(冻干)中 9 种成分的质量控制研究 [J]. 中草药, 2017(17): 3537-3544.
- [7] 张 奇, 叶正良, 王薇丹, 等. HPLC-峰面积归一法测定注射用益气复脉(冻干)中总木脂素的含量 [J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(11): 2239-2241.
- [8] 何珊珊, 岳洪水, 宋丽丽, 等. 注射用益气复脉(冻干)HPLC 指纹图谱研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(04): 390-393.
- [9] 马彬昌, 吴川彦, 胡 兵. 山麦健脾口服液总有机酸含量测定 [J]. 中国药师, 2005, 8(11): 909-911.
- [10] 尹 莲, 杨大凯, 裘颖儿. 加味四妙丸中总有机酸总量测定及分离纯化研究 [J]. 中成药, 2006, 28(4): 552-554.
- [11] 刘丽敏, 年四辉, 包淑云, 等. 板蓝根药材及颗粒中总有机酸含量测定方法研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2011(6): 85-88.
- [12] 张 奇, 叶正良, 李德坤, 等. 电位滴定法测定五味子提取物中总有机酸的含量 [J]. 陕西中医, 2011, 32(3): 342-343.