

HPLC 法同时测定养血注射液中阿魏酸和盐酸川芎嗪

李孝栋, 侯 超

福建中医药大学药学院, 福建 福州 350108

摘 要: 目的 建立同时测定养血注射液中阿魏酸和盐酸川芎嗪的 HPLC 分析方法。方法 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.5%醋酸水溶液 (35:65), 检测波长 295 nm, 进样量 20 μL, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃。结果 阿魏酸线性范围 40~200 μg/mL, $r=0.999\ 9$, 平均回收率为 97.59%, RSD 为 0.74%; 盐酸川芎嗪线性范围 13.8~69.0 μg/mL, $r=0.999\ 9$, 平均回收率为 99.36%, RSD 为 0.71%。结论 该法灵敏、准确, 重复性好, 可用于同时测定养血注射液中阿魏酸和盐酸川芎嗪的量。

关键词: 养血注射液; 阿魏酸; 盐酸川芎嗪; HPLC; 质量控制

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)11-2203-03

Simultaneous determination of ferulic acid and ligustrazine hydrochloride in Yangxue Injection by HPLC

LI Xiao-dong, HOU Chao

College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China

Key words: Yangxue Injection; ferulic acid; ligustrazine hydrochloride; HPLC; quality control

养血注射液由传统四物方^[1]中提取的有效成分阿魏酸、盐酸川芎嗪等组成, 具有补血、养血、活血的功效, 通过降低血液黏度, 对中老年人群中发病率较高的心脑血管疾病具有良好的预防和治疗作用, 文献报道阿魏酸、盐酸川芎嗪作为四物方中的活性成分, 具有增加血流量、改善微循环^[2]、抗血栓^[3]、调血脂和防治心脑血管疾病^[4-5]等作用。

在质量控制方面, 单独测定阿魏酸或盐酸川芎嗪的方法较多^[6-8], 但同时测定阿魏酸和盐酸川芎嗪的文献报道较少^[9]。因此本实验采用 HPLC 法同时测定阿魏酸、盐酸川芎嗪的量, 将为养血注射液和相关制剂的质量控制提供依据。

1 仪器与试药

FA2004N 电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); LC—10A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); KQ—500E 型超声波清洗器 (昆山超声仪器公司)。

阿魏酸 (批号 110773-201012)、盐酸川芎嗪 (批号 110817-201006) 对照品, 中国药品生物制品检定所; 养血注射液由福建中医药大学药学院药剂科

研实验室自制 (批号分别为 20120310、20120311、20120312)。甲醇 (山东禹王实业有限公司, 色谱纯); 超纯水 (实验室自制); 醋酸 (上海久亿化学试剂有限公司, 分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.5%醋酸水溶液 (35:65); 检测波长 295 nm; 进样量 20 μL; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃。在此色谱条件下, 样品中阿魏酸、盐酸川芎嗪达到基线分离, 阴性对照液中色谱峰对测定无干扰。结果见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取阿魏酸对照品 20.0 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 即得阿魏酸对照品母液 (质量浓度为 400 μg/mL); 精密称取盐酸川芎嗪对照品 6.9 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 即得盐酸川芎嗪对照品母液 (质量浓度 138 μg/mL); 再分别精密吸取上述阿魏酸对照品母液和盐酸川芎

收稿日期: 2012-05-22

基金项目: 福建省科技平台建设项目 (2010Y2004)

作者简介: 李孝栋 (1969—), 男, 福建古田人, 副教授, 主要从事中药物质基础、中药制剂与质量控制的研究。E-mail: lxdtcm@163.com

网络出版时间: 2012-10-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20121019.1035.006.html>

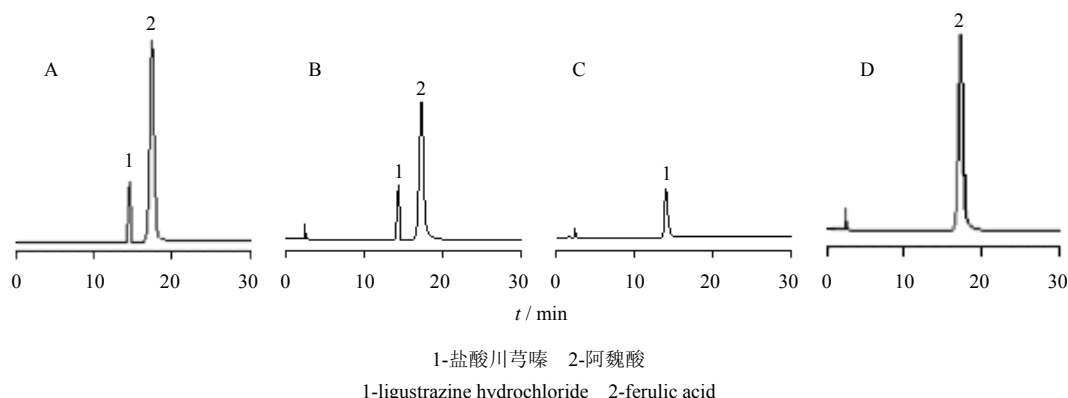


图1 混合对照品(A)、养血注射液(B)、缺阿魏酸阴性样品(C)和缺盐酸川芎嗪阴性样品(D)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Yangxue Injection (B), negative sample without ferulic acid (C), and negative sample without ligustrazine hydrochloride (D)

嗪对照品母液各 25 mL, 混合均匀, 即得含阿魏酸 200 $\mu\text{g/mL}$ 、盐酸川芎嗪 69 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品母液。

2.3 供试品溶液的制备

取养血注射液适量, 甲醇稀释 10 倍, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 阴性供试品溶液的制备

按养血注射液的生产工艺制备缺盐酸川芎嗪、阿魏酸的阴性样品, 并按照供试品溶液的制备方法制备各阴性供试品溶液。

2.5 线性关系考察

精密吸取“2.2”项下混合对照品母液 2.0、3.0、4.0、5.0、10.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 各取 20 μL 进样, 测定峰面积积分值, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积积分值为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程: 阿魏酸 $Y=151\,966X-457\,626$, $r=0.999\,9$, 线性范围 40~200 $\mu\text{g/mL}$; 盐酸川芎嗪 $Y=35\,706X+66\,913$, $r=0.999\,9$, 线性范围 13.8~69.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.6 精密度试验

精密吸取“2.2”项下混合对照品母液 4 mL 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 平行进样 5 次, 测定各成分的峰面积, 结果阿魏酸峰面积的 RSD 为 0.27%; 盐酸川芎嗪峰面积的 RSD 为 0.38%, 表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

同一批次内取 5 份样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 测定质量浓度, 结果阿魏酸平均值为 66.87 $\mu\text{g/mL}$, RSD 为 0.23%; 盐酸川芎嗪平均值为 47.27 $\mu\text{g/mL}$, RSD 为 0.39%, 表明方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8 h 进样, 测定峰面积, 结果阿魏酸峰面积的 RSD 为 0.71%; 盐酸川芎嗪峰面积的 RSD 为 0.52%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验

精密量取同一批样品 6 份, 每份 1.0 mL, 每份精密加入 100 $\mu\text{g/mL}$ 阿魏酸对照品溶液 0.7 mL、69 $\mu\text{g/mL}$ 盐酸川芎嗪对照品溶液 0.3 mL, 进样测定, 计算回收率, 结果阿魏酸平均回收率为 97.59%, RSD 为 0.74%; 盐酸川芎嗪平均回收率为 99.36%, RSD 为 0.71%。

2.10 样品测定

取 3 批样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 测定, 结果 3 批样品中阿魏酸的质量浓度分别为 66.75、66.19、66.58 $\mu\text{g/mL}$; 盐酸川芎嗪的质量浓度分别为 47.36、47.81、47.53 $\mu\text{g/mL}$ 。

3 讨论

文献报道^[10-11]阿魏酸或盐酸川芎嗪定量检测的流动相多为乙腈-水或甲醇-乙腈-水, 本实验为了更好地分离阿魏酸与盐酸川芎嗪的色谱峰, 对流动相不同比例进行了考察, 结果以甲醇-0.5%醋酸水溶液 (35:65) 为流动相时, 阿魏酸在 17.2 min 出峰、盐酸川芎嗪在 14.3 min 出峰, 峰形及相邻峰分离良好。另外, 紫外扫描时, 阿魏酸的最大波长为 316 nm, 盐酸川芎嗪最大波长为 295 nm, 本实验通过比较最终选择 295 nm 作为同时测定养血注射液中阿魏酸和盐酸川芎嗪的波长。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

- [2] 李有田, 李 赫, 许 丹, 等. 盐酸川芎嗪的药理作用及临床应用概述 [J]. 吉林中医药, 2004, 24(6): 56-58.
- [3] 梁德平, 黄云剑, 赵景宏, 等. 阿魏酸钠对原发性肾病综合征患者血脂和血液流变特性的影响 [J]. 重庆医学, 2003, 32(4): 325-326.
- [4] 赵东平, 杨文钰, 陈兴福. 阿魏酸的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1839-1841.
- [5] 杨焕正, 王 娟. 川芎嗪治疗心脑血管疾病的用法用量 [J]. 西北药学杂志, 2001, 16(5): 233-234.
- [6] 秦雪梅, 郝旭亮, 周迎春, 等. 益母草中阿魏酸的色谱鉴别 [J]. 中草药, 2001, 32(5): 447-448.
- [7] 张 伟, 林 凯. HPLC 测定舒胸胶囊中盐酸川芎嗪的含量 [J]. 中成药, 2006, 28(6): 920-922.
- [8] 凌立君, 魏惠华, 曾 莉, 等. 盐酸川芎嗪微囊的制备及质量控制 [J]. 中成药, 2006, 28(11): 1692-1693.
- [9] 李婉晴, 范俊婷, 刘 勇, 等. HPLC 法同时测定抗眩晕颗粒中盐酸川芎嗪和阿魏酸 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 59-61.
- [10] 王妙闻, 张 艺, 张 静, 等. HPLC 测定川芎中的总阿魏酸 [J]. 华西药学杂志, 2008, 23(1): 100-102.
- [11] 夏赛忠. 高效液相色谱法测定盐酸川芎嗪氯化钠注射液的含量及有关物质 [J]. 药物鉴定, 2010, 19(7): 34-35.

天津中草药杂志社售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于2009年8月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*、《现代药物与临床》(2009年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿, 欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本: 1974—1975年、1976年、1979年、1988—1993年(80元/年), 1996、1997年(110元/年), 1998年(120元/年), 1999年(135元/年), 2000年(180元/年), 2001—2003年(200元/年), 2004年(220元/年), 2005年(260元/年), 2006—2008年(280元/年), 2009年(400元/年), 2010年(400元/年), 2011年(550元/年)。

《中草药》增刊: 1996年(50元), 1997年(45元), 1998年(55元), 1999年(70元), 2000、2001年(70元), 2002—2007年(65元/年), 2008、2009年(55元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者, 购买增刊7折优惠, 款到寄刊。

Chinese Herbal Medicines 合订本: 2010年(150元/年), 2011年(150元/年)。

《现代药物与临床》合订本: 2009年(120元/年), 2010年(120元/年), 2011年(120元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本: 1996—2008年(80元/年), 2006—2008年(90元/年)。

《药物评价研究》2009年单行本每册15元, 2010年合订本(120元/年), 2011年(120元/年)。

《中文科技资料目录·中草药》: 1993—2006年合订本(全套2040元), 2007—2008年单行本, 每册定价30元, 全年订价210元(6期十年索引)。

天津中草药杂志社

地 址: 天津市南开区鞍山西道308号

邮 编: 300193

电 话: (022) 27474913 23006821

传 真: (022) 23006821

电子信箱: zcy@tiprpress.com

网 址: www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com (在线投稿)

开户银行: 兴业银行天津南开支行

账 号: 44114010010081504

户 名: 天津中草药杂志社