

# 高效液相色谱法测定阿魏酸川芎嗪口崩片的含量

吕洁<sup>1</sup> 孟祥军<sup>2</sup> 郭妍<sup>1</sup>

(1. 辽宁中医药大学职业技术学院, 辽宁 沈阳 110101; 2. 沈阳医学院, 辽宁 沈阳 110034)

**摘要:**目的 建立用高效液相色谱法测定阿魏酸川芎嗪口崩片含量的方法。方法 色谱柱为 Diamonsil - C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 用三乙胺调节 pH = 7.6 的 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液 - 乙腈(320 : 60)为流动相, 检测波长 320 nm, 流速 1.0 mL/min, 外标法定量。结果 阿魏酸川芎嗪分离完全, 进样量在 6.4 ~ 9.6 μg 范围内线性关系良好。阿魏酸线性回归方程为  $Y = 6\ 162\ 969.58X - 7\ 471\ 917.60$ ,  $r = 1.000$ ; 川芎嗪线性回归方程为  $Y = 4\ 237\ 015.65X - 3\ 057\ 438.64$ ,  $r = 1.000$ 。阿魏酸平均回收率为 99.4%,  $RSD = 1.76%$  ( $n = 9$ ); 川芎嗪平均回收率为 98.9%,  $RSD = 2.38%$  ( $n = 9$ )。结论 该方法快捷、简便、准确, 可作为阿魏酸川芎嗪口崩片的含量测定方法。

**关键词:** 阿魏酸川芎嗪; 口崩片; 高效液相色谱法

中图分类号 R927.2 R972

文献标识码 A

文章编号 1006 - 4931(2008)20 - 0024 - 02

## Determination of Ligustrazine Ferulate Orally Disintegrating Tablet by HPLC

Lu Jie<sup>1</sup>, Meng Xiangjun<sup>2</sup>, Guo Yan<sup>1</sup>

(1. Vocational College, Liaoning University of TCM, Shenyang, Liaoning, China 110101; 2. Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning, China 110034)

**Abstract:** **Objective** To establish a method for determining Ligustrazine Ferulate Orally Disintegrating Tablet by HPLC. **Methods** Diamonsil - C<sub>18</sub> column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. Acetonitrile - 0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate(60 : 320, with triethylamine to adjusting pH = 7.6) was the mobile phase and the detection wavelength was 320 nm. **Results** A good linearity was obtained in the range of 6.4 - 9.6 μg for ferulic acid. The linear equation was  $Y = 6\ 162\ 969.58X - 7\ 471\ 917.60$ ,  $r = 1.000$  for ligustrazine ferulate.  $Y = 4\ 237\ 015.65X - 3\ 057\ 438.64$ ,  $r = 1.000$  for ferulic acid. The average recovery rate of these two components: ferulic acid 99.4%,  $RSD = 1.76%$ ; ligustrazine 98.9%,  $RSD = 2.38%$ . **Conclusion** The method is simple, rapid and accurate for determining the content of Ligustrazine Ferulate Orally Disintegrating Tablet.

**Key words:** Ligustrazine Ferulate orally disintegrating tablet; HPLC

阿魏酸川芎嗪是中药川芎中的主要活性成分,对脑缺血、缺氧损伤有保护作用<sup>[1-3]</sup>。依据其理化性质,笔者研制了阿魏酸川芎嗪的口崩片,为老年患者、吞咽困难患者以及服药依从性差的患者带来了便利,现参考有关文献<sup>[4-6]</sup>对阿魏酸川芎嗪口崩片的含量测定方法进行研究。

### 1 仪器与试剂

UV200 II 型高效液相色谱仪(大连依利特科学仪器有限公司);SunRun Express 色谱数据工作站(上海军锐);AUY - 120 型电

子天平(日本岛津);乙腈(色谱纯,天津市四友精细化学品有限公司);磷酸二氢钾(分析纯);阿魏酸川芎嗪对照品(沈阳医学院药物中心,含量为 99.6%,批号为 20060612);阿魏酸钠对照品(苏州第一制药厂,批号为 20060302,含量 99.5%);盐酸川芎嗪对照品(吉林万生药业责任有限公司提供)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil - C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:

溶液 100 mL 溶解,按薄膜过滤法滤至另一管,冲洗 300 mL 并泵入相同培养基,于两管中分别接入含菌量小于 100 CFU/mL 的试验菌,前者作为阳性对照管,后者作为试验管。再取硫乙醇酸盐培养基及改良马丁液体培养基,分别泵入另两管集菌器中,作为阴性对照管。各试验菌同法操作,培养 3 ~ 5 d。结果见表 2。经 pH=7.0 的氯化钠 - 蛋白胨缓冲液 300 mL 冲洗后,金黄色葡萄球菌在培养 5 d 后生长,铜绿假单胞菌 48 h 后生长,枯草芽孢杆菌和生孢梭菌 5 d 后缓慢生长。故应增大冲洗量,方可消除药物的抑菌作用。

#### 2.4 方法验证试验 III

取 KDGB 一次性全封闭集菌器(两联)一套,在一管中先泵入培养基并夹紧管口,再将本品 3 瓶用 pH=7.0 的氯化钠 - 蛋白胨溶液 100 mL 溶解,按薄膜过滤法滤至另一管冲洗 500 mL 并泵入相同培养基,于两管中分别接入含菌量小于 100 CFU/mL 的试验菌,前者作为阳性对照管,后者作为试验管。再取硫乙醇酸盐培养基及改良马丁琼脂培养基分别泵入另两管集菌器中,作为阴性对照管。各试验菌同法操作,培养 3 ~ 5 d。结果见表 2。

#### 2.5 样品无菌检查

取本品 9 瓶,溶于 pH=7.0 的氯化钠 - 蛋白胨溶液 100 mL 中,按薄膜过滤法滤至全封闭集菌器中,每管冲洗 500 mL(每次 100 mL),2 管中加入硫乙醇酸盐培养基,其中 1 管接入金黄色葡萄

球菌作为阳性对照,另 1 管加入改良马丁培养基,培养 14 d,逐日观察。结果供试品管均澄清,阳性管菌生长良好,判定供试品无菌检查符合规定。

### 3 讨论

由表 1 可见,本品未经冲洗时对霉菌和酵母菌无抑菌作用,但改良马丁培养基可以检出硫乙醇酸盐液体培养基不能检出的一些需气菌,所以真菌检查管和细菌检查管条件一致;本品对细菌有明显的抑制作用,经 pH=7.0 的氯化钠 - 蛋白胨溶液 300 mL 冲洗后,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和生孢梭菌仍有抑菌作用。由表 2 可见,样品经冲洗 500 mL 后才能满足验证要求。因此,确定注射用阿奇霉素的无菌检查法为:取样品 9 瓶,用 pH=7.0 的氯化钠 - 蛋白胨溶液 100 mL 溶解,采用薄膜过滤法,冲洗量为每个滤膜 500 mL,阳性对照菌为金黄色葡萄球菌。

参考文献:

- [1] Peters DH, Fried HA, Metwsh D. Azithromycin: A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficiency [J]. Drug, 1992, 44(5): 750 - 799.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005 附录 6.

(收稿日期 2008 - 05 - 28)

用三乙胺调节 pH=7.6 的 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈 (320:60) 检测波长 320 nm 流速 1.0 mL/min。理论塔板数按阿魏酸峰计算应不低于 4 000。

## 2.2 系统适用性试验

取阿魏酸川芎嗪对照品 20 mg 精密称定,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。精密量取 20  $\mu$ L,注入液相色谱仪,记录色谱图(见图 1)。阿魏酸峰理论塔板数为 5 163.2,川芎嗪峰理论塔板数为 9 896.4,且其分离度为 31.950。

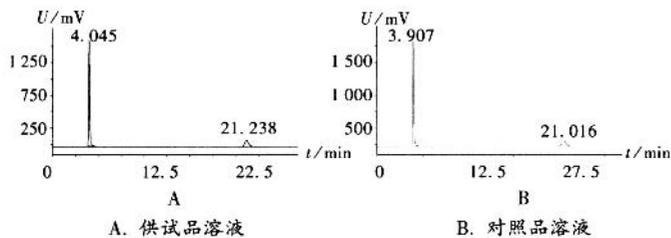


图 1 高效液相色谱图

## 2.3 定量限试验

取阿魏酸钠对照品 14.8 mg 与盐酸川芎嗪对照品 5.2 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,再精密量取 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。再精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪中,记录色谱图。因盐酸川芎嗪较阿魏酸钠峰面积小 10 倍,故以盐酸川芎嗪峰计算,按 10 倍信噪比(S/N)计,定量限约为 2.08 ng。

## 2.4 最低检测限试验

精密量取定量限试验项下溶液 6  $\mu$ L,注入液相色谱仪中,记录色谱图。按 S/N=3 计,最低检测限为 0.6 ng。

## 2.5 方法学考察

标准曲线制备:精密称取阿魏酸钠对照品 14.8 mg 与盐酸川芎嗪对照品 5.2 mg,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,再分别精密量取上述溶液 4.0 A、5.0、5.5、6.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,分别精密量取 20  $\mu$ L,注入液相色谱仪,记录色谱图。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归,得线性回归方程,阿魏酸为  $Y=6\ 162\ 969.58X-7\ 471\ 917.60$ , $r=1.000$ ,川芎嗪为  $Y=4\ 237\ 015.65X-3\ 057\ 438.64$ , $r=1.000$ 。结果表明阿魏酸川芎嗪进样量在 6.4~9.6  $\mu$ g 范围内与峰面积线性关系良好。

稳定性试验:精密称取阿魏酸川芎嗪细粉 20 mg(以阿魏酸川芎嗪计),置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,于 0、2、4、6、8 h 时进样,精密量取 20  $\mu$ L,注入液相色谱仪。结果峰面积的 RSD 阿魏酸为 1.38% (n=5),川芎嗪为 0.50% (n=5),表明阿魏酸川芎嗪溶液在 8 h 内稳定。

精密度试验:精密称取阿魏酸川芎嗪对照品 20 mg(以阿魏酸川芎嗪计),共 6 份,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,分别进样 6 次,每次 20  $\mu$ L。结果峰面积的 RSD 阿魏酸为 0.73% (n=6),川芎嗪为 1.4% (n=6),表明方法精密度良好。

重现性试验:精密称取阿魏酸川芎嗪对照品 20 mg(以阿魏酸川芎嗪计),共 6 份,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 20  $\mu$ L,进样测定。结果峰面积的 RSD 阿魏酸为 0.6% (n=6),川芎嗪为 1.1% (n=6),表明方法重现性良好。

回收率试验:取阿魏酸川芎嗪对照品 16、20、24 mg 精密称定,

各 3 份,分别加入与片剂处方量相同的辅料,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,过滤,精密量取续滤液 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图;另精密称取经干燥至恒重的阿魏酸钠对照品 14.8 mg,盐酸川芎嗪对照品 5.2 mg,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,同法测定,按外标法以峰面积计算。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=9)

加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
16.1	16.1	15.9	15.9	98.8	98.7				
15.8	15.8	15.4	15.4	97.5	97.5				
16.3	16.3	16.6	16.5	101.8	101.2				
20.5	20.5	19.9	19.6	97.1	95.6				
19.7	19.7	20.1	19.9	102.0	101.0	99.4	98.9	1.76	2.38
19.6	19.6	19.4	18.9	99.0	96.4				
24.3	24.3	24.1	24.5	99.2	100.8				
23.6	23.6	23.8	22.9	100.8	97.0				
24.2	24.2	23.9	24.6	98.8	101.7				

注:A为阿魏酸,B为川芎嗪。

## 2.6 样品含量测定

取重量差异合格项下的片剂,研细,取细粉约 20 mg(以阿魏酸川芎嗪计),精密称定,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图;另精密称取经干燥至恒重的阿魏酸钠对照品 14.8 mg(以阿魏酸计),盐酸川芎嗪对照品 5.2 mg(以川芎嗪计),置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,同法测定,按外标法以峰面积计算。结果批号为 20060801、20060802、20060803 的 3 批样品含量以阿魏酸计算,分别为 99.5%、99.0%、101.6%,以川芎嗪计算分别为 99.7%、98.8%、100%。根据含量测定结果,考虑到本品为半合成原料和将来大工业生产时的实际情况,限定本品的含量应为标示量的 90.0%~110.0%。

## 3 讨论

精密称取阿魏酸川芎嗪对照品适量,加流动相制成每 1 mL 中含 10  $\mu$ g 的溶液,摇匀,照 2005 年版《中国药典(二部)》附录 IV A 项下紫外光光度法在 190~400 nm 波长范围扫描,溶液在 320 nm 波长处有最大吸收,故确定检测波长为 320 nm。方法学研究显示,高效液相色谱法可用于阿魏酸川芎嗪口崩片的含量测定。

作者简介:吕洁(1964-),女,副教授,主要从事标准研究工作;孟祥军(1963-),本文通讯作者,男,教授,从事药物研究工作,(电话)024-62215710(电子信箱)mengxiangjun6@163.com。

## 参考文献:

- [1] 徐睿,李源,黄照.川芎嗪药物代谢动力学研究进展[J].安徽中医学报,2002,21(1):5861.
- [2] 李晏,曹尉尉,杨延莉,等.山萸萸碱口腔速溶片的研制及体外释放特性研究[J].第二军医大学学报,2005,26(10):1196-1198.
- [3] 刘华,宋伟,刘孝霞,等.脑得生口崩片的研制和考察[J].中药研究与信息,2005,(4):30-32.
- [4] 刘梅,崔光华.口腔速溶片的研究进展[J].国外医学·药学分册,2000,27(6):347-350.
- [5] 大熊英树,汪成发,夏目秀视,等.尼可地尔口腔速溶片的研究[J].药学学报,2001,36(7):535-538.
- [6] 陈欣,董善年.川芎嗪在兔体内代谢产物的研究[J].药理学,1996,31(8):617-621.

(收稿日期:2008-04-02)