

## HPLC法测定盐酸法舒地尔的含量

李金涛 干伟 邓媛媛 干国平 (湖北中医药大学中药资源与中药化学省级重点实验室 武汉 430065)

**摘要** 目的: 建立盐酸法舒地尔的含量测定方法。方法: 采用HPLC法, 色谱柱为Welchrom C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为1%三乙胺水溶液(用磷酸调pH至7.0)-甲醇(60:40), 流速1.0 ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长275 nm, 柱温30 ℃。结果: 盐酸法舒地尔在20.16~100.8 μg·ml<sup>-1</sup>浓度范围内线性关系良好( $r=0.9998, n=5$ ), 平均加样回收率为99.87%, RSD为0.59% ( $n=9$ )。结论: 本方法操作简便, 结果准确可靠, 可用于该药品的质量控制。

**关键词** 盐酸法舒地尔; HPLC法; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2010)11-1609-03

### Determination of Fasudil Hydrochloride by HPLC

Li Jintao, Gan Wei, Deng Yuanyuan, Gan Guoping (Hubei Key Laboratory of Resource Science and Chemistry in Chinese Medicine, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

**ABSTRACT Objective:** To established a method to determinate the content of fasudil hydrochloride. **Method:** HPLC was adopted, C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) cloumn was used, 1% Triethylamine aqueous solution (pH adjusted to 7.0 with phosphoric acid) - Methanol (60:40) was used as mobile phase. The flow rate was 1.0 ml·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was at 275 nm and the column temperature was at 30 ℃. **Result:** The line correlation of fasudil hydrochloride was observed from 20.16-100.8 μg·ml<sup>-1</sup> ( $r=0.9998$ ). The recoveries was 99.84%, RSD was 0.59%. **Conclusion:** This method is convenient and pollution-free to the environment, the results is accurate and reliable. It can be used for the quality control of fasudil hydrochloride.

**KEY WORDS** Fasudil hydrochloride; HPLC; Determination

盐酸法舒地尔为血管扩张药, 具有改善及预防蛛网膜下腔出血术后的脑血管痉挛及随之引起的脑缺血症状的作用。

通讯作者: 干国平 Tel: 13995551949 E-mail: ganguop@sina.com

谱条件记录色谱峰面积。以峰面积为纵坐标(Y), 以丹皮酚进样量(μg)为横坐标(X)进行线性回归, 得到回归方程:  $Y = 5.00 \times 10^6 X - 4.75 \times 10^4, r = 0.9998$ , 表明丹皮酚在0.1094~1.0940 μg范围内线性关系良好。

#### 2.7 精密度试验

精密吸取丹皮酚对照品溶液20 μl, 重复进样6次, 峰面积的RSD为0.28%。

#### 2.8 稳定性试验

精密吸取供试品溶液20 μl 在0, 2, 4, 6, 8 h 分别进样测定, 峰面积的RSD为0.25%。表明供试品溶液在8 h内稳定。

#### 2.9 重复性试验

取同一批号(090512)的供试品, 照“2.3”项下制备6份供试品溶液, 依法测定, 结果平均含量为3.57 mg/粒, RSD为0.23%。

#### 2.10 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号: 090512; 含量3.4 mg/粒)6份, 精密称定, 分别精密加入丹皮酚对照品适量, 按“2.3”项下的方法制备供试液, 依法测定。计算回收率, 结果平均回收率为99.5%, RSD为1.91% ( $n=6$ )。

#### 2.11 样品测定

分别精密吸取对照品及供试品溶液各20 μl, 进样, 按上

述色谱条件测定, 记录色谱图, 以外标法计算供试品中丹皮酚的含量, 结果见表1。

表1 桂枝茯苓胶囊中丹皮酚的含量( $n=3$ )

| 批号     | 丹皮酚含量(mg/粒) |
|--------|-------------|
| 090510 | 3.3         |
| 090512 | 3.2         |
| 090514 | 3.4         |

### 3 讨论

供试品组分多, 成分复杂, 选用了不同浓度的甲醇及乙醇提取, 结果以甲醇提取完全。试验比较了超声处理20, 25, 30, 35, 40 min 对丹皮酚提取的影响, 测得样品含量每粒分别为0.986, 1.105, 1.105, 1.106, 1.105 mg, 充分说明超声处理30 min 后丹皮酚含量不再增加, 故选择超声处理30 min<sup>[3]</sup>。

#### 参 考 文 献

- 1 中国药典[S]. 2005年版. 一部. 附录VD 33, 559
- 2 冯燕芹, 黄驰, 叶崇义. 气相色谱法测定桂枝茯苓胶囊中丹皮酚的含量[J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(1): 15-17
- 3 郭青, 朱文英. 咽炎片中丹皮酚的提取方法及含量测定[J]. 中国药品标准, 2009. 10(2): 119

(2010-07-18 收稿 2010-07-30 修回)

临床上用于治疗脑梗塞,改善心、脑缺血症状,抑制神经细胞受损,减轻受累脑组织的炎性反应等。国家药品标准<sup>[1]</sup>中,其含量测定方法为加醋酸汞的非水电位滴定法,该法因使用醋酸汞而可能对环境造成污染。鉴于此,笔者采用HPLC法对盐酸法舒地尔含量测定方法进行了研究。

## 1 仪器与材料

LC-10ATvp 高效液相色谱仪(日本岛津);岛津色谱工作站;PHS-3D 型精密 pH 计(上海雷磁精密仪器厂)。盐酸法舒地尔原料药(自制,批号:080502,080601,080602);盐酸法舒地尔对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100614-200401);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为双蒸水。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液的制备

精密称取经 150 °C 干燥 4 h 的盐酸法舒地尔对照品适量,加流动相溶解制成每 1 ml 中含约 60 μg 的溶液。

### 2.2 供试品溶液的制备

取本品约 15 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 5 ml,置 25 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。

### 2.3 检测波长的选择

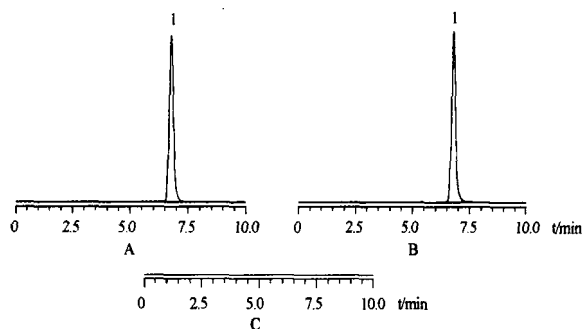
取本品,加流动相使溶解并制成每 1 ml 中含约 30 μg 的溶液,照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2005 年版二部附录 IV A)测定,以流动相为空白溶剂。结果:样品在 275 nm 的波长处有最大吸收,故选择 275 nm 为测定波长。

### 2.4 色谱条件

色谱柱:Welchrom C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相:1% 三乙胺水溶液(用磷酸调 pH 至 7.0)-甲醇(60:40),流速:1.0 ml·min<sup>-1</sup>,检测波长:275 nm,柱温:30 °C,进样量:20 μl,理论塔板数按盐酸法舒地尔计算不低于 6 000。

### 2.5 干扰试验

取对照品、供试品和流动相 20 μl,分别注入液相色谱仪,结果空白样品在盐酸法舒地尔主成分峰保留时间处未出现色谱峰,即空白无干扰。见图 1。



A. 供试品 B. 对照品 C. 空白样品 1. 盐酸法舒地尔

图 1 盐酸法舒地尔 HPLC 图

### 2.6 线性关系试验

精密称取于 150 °C 干燥 4 h 的盐酸法舒地尔对照品 20.16 mg,置 10 ml 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品贮备液(2.016 mg·ml<sup>-1</sup>);分别精密量取对照品贮备液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ml,置 10 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。各取 20 μl,注入液相色谱仪,记录色谱图。

将主成分峰面积对其相应的浓度进行回归处理,得回归方程: $Y = 2.31 \times 10^4 X + 4.62 \times 10^3$ ,  $r = 0.9998$  ( $n = 5$ )。结果表明,盐酸法舒地尔在 20.16 ~ 100.8 μg·ml<sup>-1</sup> 浓度范围内,峰面积与相应的浓度呈良好的线性关系。

### 2.7 精密度试验

精密量取同一供试品溶液,依法重复测定 6 次,结果测得峰面积的 RSD 为 0.28%,表明仪器的精密度良好。

### 2.8 重复性试验

取本品(批号 080502)6 份,照供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,依法测定。结果:样品含量的平均值为 99.42%,RSD 为 0.45%,表明方法重复性良好。

### 2.9 稳定性试验

取同一供试品溶液于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 测定。结果:同一供试品溶液在 8 h 内 6 次测得主成分峰的峰面积的 RSD 为 0.35%,表明样品在 8 h 内稳定,满足测定方法要求。

### 2.10 加样回收率试验

分别精密称取本品 6, 7.5, 9 mg,置于 50 ml 量瓶中,精密加入盐酸法舒地尔对照品 6, 7.5, 9 mg,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 ml,置于 25 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。依法测定,并计算其回收率。结果加样回收率为 99.87%,RSD 为 0.59% ( $n = 9$ )。

### 2.11 样品的含量测定

取供试品溶液及对照品溶液,进样,依法测定,按外标法以峰面积计算样品的含量,结果见表 1。

表 1 样品的含量测定结果

| 批号     | 含量(%) |
|--------|-------|
| 080501 | 99.42 |
| 080601 | 99.97 |
| 080602 | 99.15 |

## 3 讨论

3.1 盐酸法舒地尔属于有机碱氢卤酸盐类药物,这类药物的含量测定方法常采用高氯酸滴定法,即加醋酸汞的非水电位滴定法,该方法简便、准确,但实验过程中因使用醋酸汞会对环境造成污染。国家药品标准的指导原则<sup>[2]</sup>已明确指出:“应少用高氯酸滴定法测定有机碱氢卤酸盐类药物含量,以避免汞的污染”。《美国药典》和《欧洲药典》在这方面已做了很多改进。本文在查阅文献的基础上,分别采用醇中碱滴定法<sup>[3]</sup>和不加醋酸汞的非水电位滴定法测定盐酸法舒地尔的含量,结果均不理想。最终选用 HPLC 法测定其含量。结果表明,该方法快速简便、准确可靠。

3.2 流动相中加入三乙胺碱性调节剂可消除碱性成分的拖尾现象,对于含有环状叔胺结构的盐酸法舒地尔有明显的促进作用。原因是本实验所用色谱柱的填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶,其表面有少量游离的硅醇基,呈弱酸性,而三乙胺作为一种竞争碱,在进入色谱柱后可以抑制或掩蔽固定相表面的游离硅醇基的活性,从而减少了盐酸法舒地尔中高哌嗪环内的叔胺与硅醇基之间的相互作用,使盐酸法舒地尔保持良好峰形,去除色谱峰的拖尾现象。

3.3 曾对流动相进行了选择:分别以 1.0% 三乙胺水溶液

## HPLC法同时测定养血化瘀合剂中阿魏酸和甘草酸的含量

张翔 (南京市药品检验所 南京 210015) 韩继永 (南京海光应用化学研究所)

**摘要 目的:** 建立 HPLC 法同时测定养血化瘀合剂中阿魏酸、甘草酸含量的方法。**方法:** 采用 Diamonsil C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈为流动相 A, 0.085% 磷酸水溶液为流动相 B, 进行线性梯度洗脱, 流速为 1.0 ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 245 nm, 柱温为 25 °C。**结果:** 阿魏酸在 5.02 ~ 50.24 μg·ml<sup>-1</sup> ( $r=0.9999$ ) 和甘草酸在 2.46 ~ 24.62 μg·ml<sup>-1</sup> ( $r=0.9999$ ) 的范围内浓度与峰面积呈良好的线性关系, 阿魏酸和甘草酸的加样回收率分别为 100.1% ( $n=9, RSD=1.57%$ ) 和 99.8% ( $n=9, RSD=0.98%$ )。**结论:** 本法操作简单、快速、重复性好, 结果准确可靠, 可用于养血化瘀合剂的质量控制。

**关键词** 养血化瘀合剂; 阿魏酸; 甘草酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2010)11-1611-02

### Simultaneous Determination of Ferulic Acid and Glycyrrhizic Acid in Yangxuehuayu Mixture by HPLC

Zhang Xiang<sup>1</sup>, Han Jiyong<sup>2</sup> (1. Nanjing Institute for Drug Control, Nanjing 210015, China; 2. Nanjing Haiguang Institute of Applied Chemistry)

**ABSTRACT Objective:** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of ferulic acid and glycyrrhizic acid in yangxuehuayu mixture. **Method:** The Diamonsil C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was acetonitrile and 0.085% phosphoric acid with gradient elution. The flow rate was 1 ml·min<sup>-1</sup>. The wavelength was 245 nm. The temperature of column was 25 °C. **Result:** The linear ranges of ferulic acid and glycyrrhizic acid were 5.02-50.24 μg·ml<sup>-1</sup> ( $r=0.9999$ ) and 2.46-24.62 μg·ml<sup>-1</sup> ( $r=0.9999$ ). The average recoveries were 100.1% ( $n=9, RSD=1.57%$ ) and 99.8% ( $n=9, RSD=0.98%$ ), respectively. **Conclusion:** The method is simple, reliable, and reproducible, it can be used to control the quality of yangxuehuayu mixture.

**KEY WORDS** Yangxuehuayu mixture; Ferulic acid; Glycyrrhizic acid; HPLC

养血化瘀合剂出自《傅青主女科》, 由当归、川芎、甘草等多味中药制成的复方制剂, 多用于妇科产后恶露不净, 具有养血活血, 温经止痛的临床功用。其现行的苏药制字 Z04001768 附质量标准制订过于简单, 无法全面评价制剂的内在真实质量。本文以制剂中主要活性成分当归、川芎中的阿魏酸与甘草中的甘草酸为检测对象, 参照相关文献<sup>[1-4]</sup>建立了同时测定其两种成分的方法。

#### 1 仪器与试剂

##### 1.1 仪器

SHIMADZU LC-20AT 高效液相色谱仪、SPD-M20A 型光电二极管阵列检测器、LC Solution 版本 1.24 SP1 色谱数据工作站(日本岛津公司); KQ-250B 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯仪器有限公司); YB-Z 型真空恒温干燥箱(天津药典标准仪器厂); EPED-20DC 超纯水仪(南京易普益达科技发展有

限公司)。

##### 1.2 试剂

阿魏酸对照品(批号: 110773-200611)、甘草酸单铵盐对照品(批号: 110731-200615)均由中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用; 养血化瘀合剂(南京市妇幼保健院, 批号: 20100413, 20100414, 20100420); 乙腈(色谱纯); 磷酸, 甲醇(分析纯)。

#### 2 方法与结果

##### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 0.085% 磷酸水溶液, 线性梯度洗脱(0 ~ 30 min, 83% B → 50% B); 检测波长: 245 nm; 流速: 1.0 ml·min<sup>-1</sup>; 柱温: 25 °C。进样体积: 20 μl。

##### 2.2 对照品溶液的制备

取经五氧化二磷减压干燥 12 h 后的阿魏酸及甘草酸单

通讯作者: 张翔 Tel: (025)85036219 E-mail: shrek1@163.com

(用磷酸调节 pH 至 7.0) (A)-甲醇 (B) (60:40)、(50:50)、(40:60) 三种比例混合液为流动相, 进样分析, 结果, 以 1.0% 三乙胺水溶液(用磷酸调节 pH 至 7.0)-甲醇(50:50) 或(40:60) 为流动相时, 理论塔板数按盐酸法舒地尔计算均大于 6 000, 主成分峰与杂质峰分离度好, 但主成分峰峰形对称性稍差; 以 1.0% 三乙胺水溶液(用磷酸调节 pH 至 7.0)-甲醇(60:40) 为流动相时, 主成分峰与杂质峰分离度好, 主

成分峰峰形对称性好。

#### 参 考 文 献

- 1 国家药品标准[S]. WS1-(X-111)-2006Z
- 2 国家药典委员会. 国家药品标准工作手册[M]. 第3版. 北京: 中国医药科技出版社. 1998, 69
- 3 柳小秦. 醇中碱滴定测定盐酸氟桂利嗪的含量[J]. 西北药学杂志, 2005, 20(4): 150-151

(2010-05-10 收稿 2010-07-29 修回)