维普资讯 http://www.cqvip.com

技术与方法 文章编号:0253-3626(2007)03-0282-02

HPLC 法测定小金丸软胶囊中阿魏酸的含量

王 欣,刘 新

(重庆医科大学药学院生药教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立小金丸软胶囊中阿魏酸的 HPLC 含量测定方法。方法:采用 Diamonsil™ C_{18}(4.6×250mm,5μm)色谱柱,流动相为甲醇:1%醋酸水溶液(25:75),流速为 1.0ml/min,柱温 25℃,检测波长为 320nm。结果:阿魏酸在 3~18μg/ml 与其峰面积线性关系良好,回归方程为 Y=100708.7X+24(r =0.9991),平均回收率为 100.6%(RSD=1.86%,n=5)。结论:该方法灵敏度高,准确,重现性好,可作为小金丸软胶囊中阿魏酸含量测定方法。

【关键词】小金丸软胶囊;阿魏酸;高效液相色谱法

【中国图书分类法分类号】R927.2 【文献标识码】A 【收稿日期】W06-06-23

Determination of the content of ferulic acid in Xiaojin Wan soft capsule by HPLC

WANG Xin, et al

(*Staff room of Pharmacognasy, College of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To establish a method for content determination of ferulic acid in Xiaojin Wan soft capsule by high performance liquid chromatography(HPLC). *Methods*: Analysis was carried out on Shimadzu LC-2010A HPLC. The separation was performed on Diamonsil™ C_{18} column (4.6×250mm, 5μm), with methanol: 1% acetic acid (25:75) as mobile phase, the flow rate was 1.0ml/min, column temperature was 25℃ and the detection wavelength was 320nm. *Results*: A good linear relationship was found within the range of 3~18μg/ml, Regression equation was Y=100708.7X+24(r=0.9991) and the average recovery was 101.1% (RSD=1.86%, n=5). *Conclusion*: This method was highly sensitive, accurate and well represented, which could be used to determine the content of ferulic acid in Xiaojin Wan soft capsule.

【Key words】Xiaojin Wan soft capsule; Ferulic acid; High performance liquid chromatography(HPLC)

小金丸为传统方剂,出自清·王洪绪《外科全生集》,由麝香、白胶香、木鳖子、草乌、乳香、没药、当归、地龙、五灵脂、香墨共十味药材组成,药典 2005 版收载。小金丸软胶囊为小金丸的剂改剂型,本方药性强烈,具散结消肿、化瘀止痛的功效[1]。有关小金丸软胶囊质量标准的研究尚未见报道,为了保证临床用药质量,本文就小金丸软胶囊中阿魏酸的 HPLC 含量测定方法进行研究,现将研究结果报道如下。

1 仪器与试剂

LC-2010A 型高效液相色谱仪 (Shimadzu Ltd), 色谱柱 Diamonsil™ C_{18} (4.6×250mm,5μm),UV2501-PC 紫外分光光度计 (Shimadzu Ltd.),AB204-E 电子天平 (Mettler Toledo); 阿魏酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 0773-9809),小金丸软胶囊(自制);所用试剂甲醇为色谱纯,冰醋酸为分析纯。

作者介绍: 王 欣(1979-),男,硕士生,
主要研究方向:中药制剂、中药质量标准。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

Diamonsil™ C_{18} 色谱柱(4.6×250mm,5μm);流动相:甲醇:1%冰醋酸水溶液(25:75);流速:1.0ml/min;检测波长:320nm;柱温:25℃;理论塔板数按阿魏酸峰计算应不低于 3000。在此条件下,供试品溶液中阿魏酸和其它成分可达到基线分离,阿魏酸峰与相邻色谱峰的分离度大于 1.5,空白对照无干扰。

2.2 对照品溶液的制备

取阿魏酸对照品约 10mg,精密称定,置 50ml 棕

维普资讯 http://www.cqvip.com

色量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取 3ml, 置 50ml 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度,摇匀,即得。

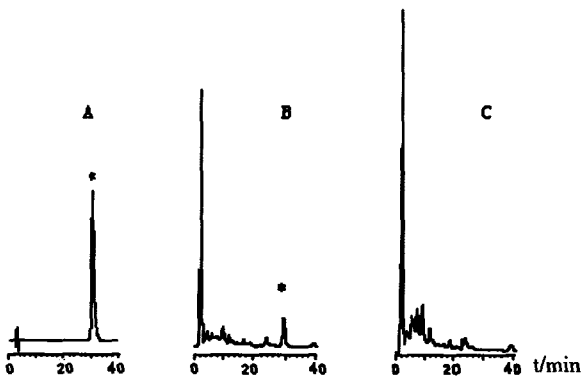
2.3 供试品溶液的制备

取装量差异项下的小金丸软胶囊内容物约 2.6g,精密称定,置三角烧瓶中,精密加入甲醇20ml,称定重量,加热回流 30min,放冷,再称定重量,用甲醇补足,摇匀,静置,取上清液用微孔滤膜(0.45μm)滤过,作为供试品溶液。

2.4 空白试验

按样品制备时的取样量,折算成处方中除当归外其余药材的取样量,制成样品,按供试品溶液的制备方法,制成空白溶液。空白溶液、供试品溶液及对照品溶液分别按进样测定。结果供试品及对照品溶液在相应保留时间处有吸收峰,而空白溶液无吸收峰,说明空白溶液无干扰。见图 1。

2.5 线性关系考察



*- 阿魏酸

图 1 阿魏酸对照品(A)、供试品(B)和空白对照(C)的 HPLC 图谱

精密量取 2.2 项下的阿魏酸对照品溶液 3ml、6ml、9ml、12ml、15ml、18ml, 置 50ml 棕色量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。取上述溶液 20μl 进样,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析。以峰面积(Y)对质量浓度(X)绘制标准曲线。结果表明:阿魏酸在 3~18μg/ml 与其峰面积线性关系良好,回归方程为 Y=100708.7X+24,r=0.9991。

2.6 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液, 连续进样 5 次,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析,测定阿魏酸峰面积,结果 RSD 为 0.55%。

2.7 稳定性试验

分别精密称取小金丸软胶囊(批号:060421)适量,按 2.3 项下操作,分别在 0、3、6、9、12h,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析。结果表明,阿魏酸在 12h 内稳定性良好,阿魏酸峰面积 RSD 为 0.9%。

2.8 重现性试验

分别精密称取同批号的小金丸软胶囊 (批号:060421)适量各 5 份,按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析,阿魏酸质量分数的 RSD 为 1.41%。

2.9 回收率实验

分别精密称取已知阿魏酸含量的小金丸软胶囊(批号:060421)适量各 5 份,精密加入一定量的阿魏酸对照品溶液,按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析,测定阿魏酸含量,计算加样回收率, 结果见表 1, 平均回收率为 100.6%, RSD=1.86%(n=5)。

2.10 样品测定

表 1 回收率实验结果

编号	样品中含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	25.1	25.2	51.0	101.4		
2	25.5	25.2	51.1	100.8		
3	25.3	25.2	50.1	101.1	100.6	1.86
4	25.6	25.2	49.5	97.4		
5	24.8	25.2	51.1	102.3		

表 2 小金丸软胶囊中阿魏酸的测定结果(n=5)

批次	含量(μg/粒)
060301	8.35
060317	8.30
060328	8.33
060412	8.31
060421	8.34

分别精密称取小金丸软胶囊适量, 按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下对 5 批小金丸软胶囊进行 HPLC 分析,结果见表 2。

3 讨 论

考察了小金丸软胶囊在加热回流 10、20、30、

(下转第 289 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

清 CA_{19-9} 测定可能是诊断胆管癌的有效肿瘤标志物，但孤立的血清 CA_{19-9} 升高并不能准确地进行良、恶性疾病的鉴别。

CA_{50} 是一种广谱肿瘤标志物，在消化道肿瘤以及膀胱、前列腺、肺及乳腺癌患者血清中均有升高。Pasanen 等研究表明 CA_{50} 诊断胆管癌的灵敏度为 94.5%，其特异度只有 33.3%[7]，我们的实验结果与其基本相符，CA_{50} 对胆管癌的诊断阳性率虽高，但随着阳性率的提高，同种组织或器官的良性疾病呈现的假阳性也随之升高，误诊率可高达 70.97%。

本实验显示联合并联检测血清 CEA、CA_{19-9}、CA_{50} 可将老年胆管癌诊断的敏感度保持在 88.64%，特异度虽较单项检测血清 CEA 有所下降，但其准确度却上升为 86.79%。联合串联检测可将特异度提高到 93.54%，敏感度却明显下降，但其误诊率下降为 12.00%。通过对比，认为并联法优于串联法，联合检测对老年胆管癌的诊断具有协同作用，准确度增强，可弥补单项检测的不足，降低了漏诊概率，将单独检测 CA_{19-9}、CA_{50} 的误诊率减低至 12%。从而提高肿瘤的检出率。另外在本实验中我们发现 17 例血清 CA_{50} 含量标准值 10 倍以上增加的老年胆管癌患者，癌肿病变浸润转移，说明 CA_{50} 含量的变化与肿瘤的浸润转移密切相关。

鉴于老年胆管癌其病变缺乏特异性的临床表现，作为常用的检查诊断方法 ERCP，因有创和并发症使大多数老年患者难以耐受；虽然现代影像技术 MRCP 已经日益广泛应用于临床，但由于费用过于昂贵，在基层医院难以普遍开展；而其他的影像学检查方法对其诊断的敏感度和特异性又较低；且胆管癌的功能改变往往先于形态学的改变，肿瘤标志物的变化常早于影像学的变化，因此，检测血清肿瘤标志物对胆管癌的诊断是十分必要的，并通过本实验证实联合检测血清肿瘤标志物对老年胆管癌的诊断具有一定的价值。肿瘤相关抗原即肿瘤标志物的检测仍是今后较实用和最普及的项目，且仍将是不断发展的肿瘤检查指标，老年胆管癌肿瘤标志物方面的研究仍是艰巨的。

（通讯作者：罗文军，男，副教授，主要研究方向：普外科血管）

参 考 文 献

[1] Ddbaniew icz A.Cholangiocarinoma-bile ducts cancer[J].Wild Lek,2003;56(1-2):57-60.

[2] Mouzas IA,Dimoulios P,Vlachoniklis IG,et al.Increasing incidence of cholangiocarcinoma in Crete 1992-2000[J].Anticancer Res,2002;22(6B):3637-3640.

[3] 孔宪淘.肿瘤标志物应用进展与评价[J].实用肿瘤杂志,2002;179(5):289-292.

[4] Ramage JK,Donaghy A,Farrant JM,et al.Serum tumor markers for the diagnosis of cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis[J].Gastroentrerology,1995;108:865-869.

[5] Nekeeb A,Pitt HA,Sohn TA,et al.Cholangiocarcinoma.A spectrum of intrahepatic,perihilar,and distal tumors[J].Am J Surg,1996;171(1):147-152.

[6] Patel A H,Harnois D M,Klee G,et al.The utility of CA_{19-9} in the diagnoses of cholangiocarcinoma in patients without primary sclerosing cholangit is[J].Am J Gastroerol,2000;95(1):204-207.

[7] 程 文,程南生.胆管癌肿瘤标志物的研究进展及临床意义[J].国外医学外科学分册,2004;31(4):205-208.

（上接第 283 页）

40min 的提取率，在加热回流提取 30min 内，小金丸软胶囊中阿魏酸的提取率随提取时间的延长而提高，再延长提取时间提取率基本相同，说明用加热回流法提取 30min 即可。

由于阿魏酸易溶于甲醇，微溶于水，故采用 100%甲醇作为提取溶剂。

流动相中加入一定量的冰醋酸，可以使被测物质分离度好，峰形对称，曾参考有关文献[2-4]，但阿魏酸与其它成分的分离效果不好。本法以甲醇－醋酸水溶液为流动相，可使阿魏酸得到很好的分离。曾进行了甲醇：醋酸水溶液不同配比的摸索实验，结果表明，当甲醇：1%醋酸水溶液（25:75）时，分离效果及出峰时间最好，且峰形对称而尖锐，可作为阿魏酸的含量测定方法。

本法测定小金丸软胶囊中阿魏酸的含量，样品预处理简单，分离度好，重现性好，对此制剂的质量控制具有一定的参考价值。

（通讯作者：刘 新）

参 考 文 献

[1] 中国药典.一部[M].2005.354.

[2] 马民伟，周慧娟.HPLC 法测定生化软胶囊中阿魏酸含量[J].中草药，2003;34(6):524-525.

[3] 闵凡新，李文玉，王彦为，等.HPLC 法测定当归中阿魏酸的含量[J].中草药，2004;35(3):332-333.

[4] 金 芳，张 蕾.高效液相色谱法测定龙克栓胶囊中阿魏酸含量[J].中国医院药学杂志，1996;16(10):456-458.