反相高效液相色谱法测定苏合香丸中肉桂酸的含量

郝福¹,张福成²,蒋晔^{1*},胡丽英³ (1.河北医科大学药学院,石家庄 050017;2.空军总医院药剂科,北京 100036;3.河北大安制药有限公司,石家庄 050081)

摘要:目的 建立苏合香丸中肉桂酸含量的测定方法。方法 采用 Hypersil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-1%冰醋酸水溶液 (pH 3.5) (61:39), 检测波长为 270 nm, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温为室温。结果 肉桂酸在 6.50 × 10⁻² ~ 2.08 μg 内线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.8%, 其 RSD 为 1.4%。苏合香丸中肉桂酸的平均含量为 7.32 × 10⁻² mg · g⁻¹。结论 该方法简单、快速、重复性好, 可作为苏合香丸的质量控制方法。

关键词:苏合香丸;肉桂酸;高效液相色谱法

中图分类号:R917.730.1

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2007)02-0147-03

Determination of Cinnamic Acid Content in Suhexiang Pill by RP-HPLC

HAO Fu¹, ZHANG Fu-cheng², JIANG Ye^{1*}, HU Li-ying³ (1. School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Pharmacy Department of Air Force General Hospital, Beijing 100036, China; 3. Hebei Da'an Pharmaceutical Company, Shijiazhuang 050081, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE A method was developed to determine the content of Cinnamic Acid in Suhexiang Pill. **METHODS** A

作者简介:郝福 (1979 -), 男, 山西人, 正攻读药物分析专业的硕士学位

* 通讯作者:蒋晔, 男, 教授。Tel: (0311) 86266069; E-mail: jiangye@hebm.u.edu.cn

column of Hypersil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of methanol and 1% acetic acid (pH 3.5) (61:39). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ with the wavelength at 270 nm. **RESULTS** Cinnamic Acid showed a good linear relationship at a range of 6.50 × 10⁻² ~ 2.08 μg, *r* = 0.999 9. The average recovery was 99.8%, and RSD was 1.4%. The average content of Cinnamic Acid was 7.32 × 10⁻² mg·g⁻¹ in Suhexiang Pill. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and reliable, it can be used to control the quality of Suhexiang Pill.

KEY WORDS: Suhexiang Pill; Cinnamic Acid; HPLC

苏合香丸源于宋代《太平惠民和剂局方》,该方^[1]由苏合香、冰片等十五味药组成,具有芳香开窍、行气止痛等功效,用于中风、中暑等症。方中君药苏合香具有开窍、破秽、止痛的作用。苏合香的主要成分为肉桂酸,其在药品中的含量可以更好得表征药品的质量。中国药典 2005年版一部^[2]仅限于对苏合香、麝香酮等成分进行薄层鉴别,未对含量进行限定。苏合香丸中肉桂酸的含量测定也未见报道,本实验建立了 RP-HPLC法对苏合香丸中肉桂酸含量进行测定,该法操作简便,结果准确,适合于含苏合香制剂中肉桂酸的含量测定。

1 仪器与试药

Varian 5000 高效液相色谱仪(美国),HW 色谱工作站(南京千谱软件有限公司);肉桂酸(分析纯,批号 2004年 12月 16日,天津市远航化学品有限公司),苏合香丸(北京同仁堂制药厂),甲醇为色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为重蒸水。

肉桂酸纯度测定:取分析纯肉桂酸适量置五氧化二磷干燥器中减压干燥 24 h,取适量,精密称定,加甲醇配置成 1.02 mg·mL⁻¹的对照品溶液,在本实验色谱条件下进样三次,采用归一化法得其纯度为 99.21%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱: Hypersil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-1%冰醋酸水溶液 (pH 3.5) (61:39);检测波长 270 nm;流速 1.0 mL·min⁻¹;进样量 20 μL;柱温为室温。

系统适用性试验:在上述色谱条件下进样分析,肉桂酸色谱峰与相邻其他组分峰分离度良好,理论塔板数以肉桂酸色谱峰计不低于 3 000,肉桂酸色谱峰的拖尾因子为 1.07,将 13.0 μg·mL⁻¹的肉桂酸对照品溶液连续进样 5次,峰面积的 RSD为 1.0%。

2.2 对照品贮备液的制备

取肉桂酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成含肉桂酸为 209 μg·mL⁻¹的对照品溶液,作为贮备液。

2.3 供试品溶液的制备

取苏合香丸 1丸,研细,取样品约 1.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入 5%氨水 50 mL,称定重量,超声处理 30 min,放冷,称重,用 5%氨水补足减失重量,滤过,精密量取续滤液 25 mL,用 6 mol·L⁻¹盐酸溶液调 pH 至约 2.0,用乙醚萃取 4次,每次 20 mL,收集醚层合并,过滤,在 30℃下氮气吹干,残渣加甲醇 0.5 mL溶解,经 0.45 μm 滤膜过滤,作为苏合香丸供试品溶液。

2.4 专属性试验

按苏合香丸处方比例取各药材细粉,加适量炼蜜与水制成水蜜丸。按“2.3”项下方法制备阴性样品溶液。照上述色

谱条件,取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 20 μL 分别注入液相色谱仪。苏合香丸阴性对照液色谱图中,肉桂酸峰位处无色谱峰干扰,表明方法专属性良好。

2.5 线性关系考察

将“2.2”项下的对照品溶液进行倍比稀释,配制成肉桂酸浓度分别为 104, 52.0, 26.0, 13.0, 6.50, 3.25 μg·mL⁻¹的工作溶液,在上述色谱条件下进样,计算肉桂酸峰面积,以浓度 *C*(μg·mL⁻¹)为横坐标,肉桂酸峰面积 (*A*)为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为:

$$A = 6.25 \times 10^4 C + 2.14 \quad r = 0.9999$$

结果表明,肉桂酸在 6.50 × 10⁻² ~ 2.08 μg 内线性关系良好。

2.6 最低检测限

以肉桂酸信号强度与噪音强度比为 3:1 计,肉桂酸的最低检测限为 7.5 ng。

2.7 方法精密度的试验

取供试品溶液,连续进样 6次,测定肉桂酸峰面积,其 RSD为 0.23%,精密度良好。

2.8 重复性试验

按“2.3”项下平行制备 6份供试品溶液按拟定的含量测定方法进行 6次平行测定,结果肉桂酸的含量 RSD为 1.7%。

2.9 稳定性试验

取供试品溶液分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样,测定峰面积,结果 RSD为 1.3%,表明样品在 8h 内稳定性良好。

2.10 回收率试验

分别精密称取已知肉桂酸含量的苏合香丸适量,共 6份,分别加入一定量肉桂酸对照品溶液,按“2.3”项下操作,测定肉桂酸含量,计算回收率。结果苏合香丸中肉桂酸的平均回收率为 99.8%, RSD为 1.4%。

2.11 样品含量测定

取不同批号苏合香丸,按供试品溶液的制备方法处理,进行 HPLC 分析,采用外标一点法计算肉桂酸的含量。结果见表 1。

表 1 苏合香丸中肉桂酸的含量测定结果 (*n* = 3)

Tab 1 Contents of Cinnamic acid in suhexiang pill (*n* = 3)

样品	批号	肉桂酸/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
苏合香丸	3010557	6.65 × 10 ⁻²	1.5
	4010188	8.20 × 10 ⁻²	1.8
	4010211	7.01 × 10 ⁻²	2.2

3 讨论

3.1 吴剑峰^[3]利用 HPLC 测定了冠心苏合胶囊(含有苏合

香)中肉桂酸的含量,该制剂处方中药味较少,样品采用了甲醇超声提取,未见其他成分影响肉桂酸的分离测定。而苏合香丸由15味药组成,成分复杂,我们曾采用甲醇提取,较多的共存峰使得肉桂酸的分离十分困难,精密度较差。本实验采用5%氨水碱化样品,酸化后乙醚萃取的方法制备供试品,提高了提取的选择性,其他成分峰减小或消失,回收率试验表明,该法提取效率高,满足分析要求。

3.2 王睿等^[4]采用甲醇-乙腈-水-冰醋酸(10:22:55:0.5)为流动相测定冠心苏合丸和冠心苏合胶囊中肉桂酸含量,肉桂酸与其他成分分离所需的保留时间约20 min;本实验采用甲醇-1%醋酸(pH 3.5)(61:39)为流动相,结果肉桂酸峰与共存峰分离所需的保留时间仅为6 min,并且分离效果良好。

3.3 中成药是由多种药味依据中医药理论制成的复方制剂,其质量可用君药中的主要有效成分来评价,肉桂酸是君药苏合香的主要成分,本实验建立了反相高效液相色谱法测

定苏合香丸中肉桂酸的含量,该方法简单、快速、准确性高,可以更好地为苏合香丸的质量控制提供手段。

参考文献

- [1] SUN X B, XU H B. Pharmacology and clinics of modern Chinese medical formula [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Translation and publishing corp., 2005.
- [2] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005年版.一部)[S]. 2005.
- [3] WU J F. Determination of Cinnamic acid in Guanxinsuhe capsules by HPLC [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2004, 15(5): 268.
- [4] WANG R, CHEN X H, YU Z G, *et al.* RP-HPLC determination of Cinnamic acid in Guanxinsuhe pills and Guanxinsuhe capsules [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2005, 3(36): 384-385.

收稿日期: 2006-08-26