

## DETERMINATION OF FERULIC ACID WITH RP-HPLC METHOD IN ORAL SOLUTION CONTAINING EXTRACT OF FERULA ASSAFOETIDA L. AND VISCUM ALBUM L.

Jasmina Slavkovska, Maja Shishovska, Dragica Doneva, Zorica Arsova –Sarafinovska, Katerina Starkoska

Institute for Public Health of the Republic of Macedonia, Department for Quality Control of Medicines, Skopje, Republic of Macedonia

*Ferula assafoetida* L. is a medicinal plant widely used in the traditional medicine. Roots of *Asafoetida*, produces natural antiviral drug compounds that kill the swine flu virus, H1N1.<sup>1</sup> The aim of this study was to develop and validate a RP-HPLC method for quality control of commercially available oral solution containing extract of *Ferula assafoetida* L. and *Viscum album* L.,

Determination of the content of *Ferula assafoetida* L. extract in the oral solution was made by determination of ferulic acid, one of components identified in *Ferula assafoetida* L. plant.

The chromatographic separation was achieved on a reversed-phase column Purospher STAR<sup>®</sup> RP -18e (150 x 4.6 mm i.d., particle size 5µm), gradient run (using acetonitrile and 0.01 mol L<sup>-1</sup> orthophosphoric acid as a mobile phase), at 25°C temperature. The flow rate was kept at 1.5 ml min<sup>-1</sup>. Detection of ferulic acid was carried out at 316 nm using photodiode array detector. The proposed method was fully validated according to the ICH guidelines in terms of accuracy, precision, linearity and range.<sup>2-4</sup> The obtained data for precision, (RSD of 9.69%), and accuracy (recovery of 104.39%) are suitable for this kind of analysis. The linearity of the proposed method was tested in the range of 0.1 – 1.8 µg mL<sup>-1</sup> with regression coefficient of 0.9995 obtained. These validation results demonstrate the suitability of the method for quality control of this oral solution with expected content of ferulic acid of about 0.0001%, m/m (1ppm).

This developed HPLC method was proven to be precise, specific, sensitive, and accurate for routine quality assessment of raw material plant *Ferula assafoetida* L., its extract, and pharmaceutical products.

### REFERENCES:

1. Lee,CL; Chia-Lin Lee, Lien-Chai Chiang, Li-Hung Cheng, Chih-Chuang Liaw, Mohamed H. Abd El-Razek, Fang-Rong Chang, Yang-Chang Wu (August 19,2009(Web)). "Influenza A (H1N1) Antiviral and Cytotoxic Agents from *Ferula Assafoetida*". Journal of Natural Products xxx(xx):1568-72. doi: 10.1021/np900158f (http://dx.doi.org/10.1021/np900158f). PMID 19691312 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19691312)
2. ICH Q2R1: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Proceeding of the International Conference on Harmonisation of technical Requirements for Registration of pharmaceuticals for Human Use, Geneva, Switzerland, 1996
3. 9. AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on policies and procedures, Arlington, Va., USA (1998) <http://www.aoac.org/vmeth/PVM.pdf>
4. G.C. Hokanson, a cycle approach to the validation of analytical methods during pharmaceutical product development, part I: The initial validation process, Pharm. Tech., Sept. 1994, pp. 118-130.

## ОДРЕДУВАЊЕ НА ФЕРУЛНА КИСЕЛИНА СО RP-HPLC МЕТОД ВО ПЕРОРАЛЕН РАСТВОР КОЈ СОДРЖИ ЕКСТРАКТ ОД FERULA ASSAFOETIDA L. И VISCUM ALBUM L.

Јасмина Славковска, Маја Шишовска, Драгица Донева, Зорица Арсова –Сарафиновска, Катерина Старкоска

ЈЗУ Институт за јавно здравје на Република Македонија, Сектор за испитување и контрола и на лекови, 50 Дивизија Бр. 6, 1000 Скопје, Република Македонија

*Ferula assafoetida* L. е билка која има широка примена во традиционалната медицина. Коренот на *Asafoetida*, содржи компоненти кои имаат антивирално дејство, кои делуваат и на вирусот на свинскиот грип, H1N1.<sup>1</sup> Цел на ова истражување беше да се развие и валидира RP-HPLC метод за рутинска контрола на квалитет на перорален раствор кој содржи екстракт од *Ferula assafoetida* L. и *Viscum album* L., достапен на пазарот во Република Македонија.

Одредување на содржината на екстрактот од *Ferula assafoetida* L. во пероралниот раствор беше изведено преку одредување на содржината на ферулна киселина, една од компонентите идентификувани во билката *Ferula assafoetida* L.. Хроматографска сепарација беше постигната на реверзно – фазна колона Purospher STAR<sup>®</sup> RP -18e (150 x 4,6 mm i.d., со големина на честички 5µm), работено со градиент (користејќи ацетонитрил и 0,01М ортофосфорна киселина, како мобилна фаза), на температура од 25 °C, со проток 1,5 ml min<sup>-1</sup>. Детекцијата на ферулната киселина беше изведена на 316 nm. Предложениот метод беше комплетно валидиран согласно ICH водичите во однос на точност, прецизност, линеарност и опсег.<sup>2-4</sup> Добиените резултати за прецизноста (RSD 9,69%), и точноста (аналитички принос од 104,39%) одговараат на овој вид анализа. Линеарноста на предложениот метод беше тестирана во опсег од 0,1 – 1,8 µg mL<sup>-1</sup> со коефициент на корелација 0,9995. Резултатите добиени при валидацијата на методот потврдуваат дека предложениот метод е соодветен за контрола на квалитет на перорален раствор кој содржи ферулна киселина околу 0,0001%, m/m (1ppm).

Развиениот HPLC метод е прецизен, специфичен, осетлив и точен, а со тоа и соодветен за рутинска контрола на квалитет на билката *Ferula assafoetida* L., екстрактот и фармацевтски производи.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Lee,CL; Chia-Lin Lee, Lien-Chai Chiang, Li-Hung Cheng, Chih-Chuang Liaw, Mohamed H. Abd El-Razek, Fang-Rong Chang, Yang-Chang Wu (August 19,2009(Web)). "Influenza A (H1N1) Antiviral and Cytotoxic Agents from *Ferula Assafoetida*". Journal of Natural Products xxx(xx):1568-72. doi: 10.1021/np900158f (http://dx.doi.org/10.1021/np900158f). PMID 19691312 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19691312)
2. ICH Q2R1: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Proceeding of the International Conference on Harmonisation of technical Requirements for Registration of pharmaceuticals for Human Use, Geneva, Switzerland, 1996
3. 9. AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on policies and procedures, Arlington, Va., USA (1998) <http://www.aoac.org/vmeth/PVM.pdf>
4. G.C. Hokanson, a cycle approach to the validation of analytical methods during pharmaceutical product development, part I: The initial validation process, Pharm. Tech., Sept. 1994, pp. 118-130.