

HPLC法测定复脉定颗粒中盐酸川芎嗪的含量

何效平^{1*},王贤英^{2#}(1.川北医学院附属医院药剂科,四川南充 637000;2.重庆市中药研究院,重庆 400065)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1270-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.37

摘要 目的:建立测定复脉定颗粒中盐酸川芎嗪含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-1%醋酸水溶液(46:54, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为293 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:盐酸川芎嗪检测进样量线性范围为0.021 0~0.126 2 μg($r=0.999 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1.1%;加样回收率为98.19%~99.88%,RSD=0.60%($n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确,适用于复脉定颗粒中盐酸川芎嗪的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;复脉定颗粒;盐酸川芎嗪;含量测定

Content Determination of Ligustrazine Hydrochloride in Fumaiding Granule by HPLC

HE Xiaoping¹, WANG Xianying²(1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000 China; 2. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of ligustrazine hydrochloride in Fumaiding granule. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C₁₈ with mobile phase of methanol-1% Aqueous acetic acid (46:54, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 293 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of ligustrazine hydrochloride was 0.021 0-0.126 2 μg($r=0.999 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1.1%; recovery was 98.19%-99.88% (RSD=0.60%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for the content determination of ligustrazine hydrochloride in Fumaiding granule.

KEYWORDS HPLC; Fumaiding granule; Ligustrazine hydrochloride; Content determination

复脉定颗粒是由黄芪、党参、川芎等药材组成的中药制剂,具有补气活血、宁心安神的作用,可用于怔忡、心悸、脉结代、心律失常等症^[1]。复脉定颗粒处方中的川芎含有生物碱、酚类、有机酸、内酯类、甾醇类等多种有效成分^[2],具有活血化瘀、行气止痛的作用。其所含的盐酸川芎嗪为主要有效成分之一,有明显的扩张冠状动脉、增加冠状动脉血流量、松弛血管平滑肌及降低血小板表面活性等药理作用^[3]。现行质量标准中采用双波长薄层色谱扫描法测定盐酸川芎嗪含量,但该方法操作复杂,误差较大。因此,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法^[4]及D₁₀₁大孔树脂去除杂质^[5]来测定复脉定颗粒中盐酸川芎嗪的含量,以为复脉定颗粒的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010A型HPLC仪,包括CLASS-VP V6.12 SP4色谱工作站、紫外检测器(日本Shimadzu公司);AB265-S型双量程电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);SK250LH型超声仪(上海科导超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:50 kHz)

1.2 药品与试剂

复脉定颗粒(重庆市中药研究院制药厂,批号:120201、120402、120703、130101、130502、130903、131204、140101、140302、140601,规格:15 g/袋);盐酸川芎嗪对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110817-200305,纯度≥98%);D₁₀₁大孔吸附树脂(天津市海光化工有限公司),D₁₀₁大孔树脂处理方法:95%乙醇浸泡24 h→用95%乙醇洗至树脂流出液与水以

1:2的比例混合后不浑浊→用蒸馏水冲洗树脂至无乙醇味→用5%盐酸(HCl)通过树脂柱,浸泡3 h→用蒸馏水冲洗树脂至流出液为中性→再用2%氢氧化钠(NaOH)通过树脂柱,浸泡3 h→最后用蒸馏水洗至中性,备用;甲醇为色谱纯,乙醇、盐酸、氨水为分析纯,水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-1%醋酸水溶液(46:54, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:293 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。在此色谱条件下,盐酸川芎嗪的保留时间约为12 min,分离度为2.38,理论板数按盐酸川芎嗪峰计≥4 000。色谱见图1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取盐酸川芎嗪对照品10.52 mg,置于25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为0.420 8 mg/ml的对照品贮备液。精密吸取对照品贮备液2.5 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取复脉定颗粒适量,精密称定,置于50 ml烧杯中,加10 ml热水(70~80 ℃)溶解,将上述已溶解的溶液上样于已处理的D₁₀₁大孔树脂柱(半径:1.5 cm,柱高:15 cm),用50 ml水以3~4滴/min进行洗脱,弃去水洗脱液,再用100 ml 90%乙醇以3~4滴/min进行洗脱,收集90%乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣加甲醇30 ml,超声处理30 min,滤过,残渣加甲醇10 ml,洗涤2次,合并滤液,水浴蒸干。水浴蒸干后的残渣加甲醇适量溶解后,转移至5 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过后,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取缺川芎的其他各味药材,按复脉定颗粒处方工艺制备阴性对照样品,再按“2.2.2”项下方法制备

* 主管药师。研究方向:医院制剂。电话:0817-2262244。E-mail:774244865@qq.com

通信作者:副主任中药师。研究方向:制剂工艺、质量标准。电话:023-89029097。Email:wangxianying_315@163.com。

阴性对照溶液。

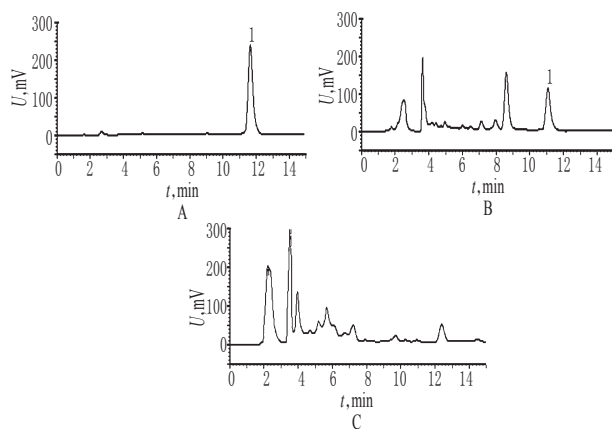


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.盐酸川芎嗪

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.ligustrazine hydrochloride

2.3 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液2、4、6、8、10、12 μl ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以进样量($x, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=1.74 \times 10^6 x + 194.23 (r=0.9999)$ 。结果表明,盐酸川芎嗪检测进样量线性范围为0.021 0~0.126 2 μg 。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl ,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,盐酸川芎嗪峰面积的RSD=0.85% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:140101)适量,分别于放置0、2、4、6、8、12、16 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸川芎嗪峰面积的RSD=1.02% ($n=7$),表明供试品溶液在16 h内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取同一批样品(批号:140101)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸川芎嗪峰面积的RSD=0.58% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:140101)5 g,共9份,分别精密加入“2.2.1”项下对照品溶液1.0、2.0、3.0 ml(各3份),按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

2.8 样品含量测定

取10批复脉定颗粒样品适量,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,按外标法计算样品含量,结果见表2。

3 讨论

3.1 提取方法的选择

复脉定颗粒为复方中药制剂,干扰成分较多,为减少杂质干扰,保护色谱柱,本试验在进样前先将样品溶液经 D_{101} 大孔树脂柱处理,将用大孔树脂处理后的溶液作为供试品溶液。结果,经过大孔树脂处理后的样品与未经处理的样品相比盐酸川芎嗪的峰形较好,杂质峰少、分离度好。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Result of recovery test($n=9$)

取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
4.998 5	0.851 7	0.420 8	1.268 1	99.14		
5.013 1	0.854 2	0.420 8	1.269 5	98.69		
4.991 2	0.850 5	0.420 8	1.270 8	99.88		
5.005 1	0.852 9	0.841 6	1.682 1	98.53		
5.000 6	0.852 1	0.841 6	1.691 1	99.69	99.04	0.60
5.002 1	0.852 4	0.841 6	1.685 2	98.95		
5.010 2	0.853 7	1.262 4	2.093 2	98.19		
5.020 3	0.855 5	1.262 4	2.100 5	98.62		
5.003 5	0.852 6	1.262 4	2.111 2	99.70		

表2 样品含量测定结果($n=3, \text{mg/g}$)

Tab 2 Results of contents determination of samples ($n=3, \text{mg/g}$)

批号	平均含量	RSD, %
120201	0.153 0	0.17
120402	0.148 8	0.31
120703	0.168 4	0.25
130101	0.158 5	0.32
130502	0.164 3	0.25
130903	0.171 4	0.29
131204	0.162 4	0.40
140101	0.170 4	0.13
140302	0.168 6	0.51
140601	0.169 7	0.48

3.2 流动相的选择

本试验分别考察了甲醇-1%醋酸水溶液、甲醇-水为流动相时对分离效果的影响^[6]。结果,采用甲醇-水为流动相时,盐酸川芎嗪的峰形拖尾明显,平均对称因子为0.49。通过调整水的比例,盐酸川芎嗪的峰形仍无法改善。而采用甲醇-1%醋酸水溶液为流动相时,盐酸川芎嗪的峰形较好。参考相关文献^[6]测定盐酸川芎嗪含量时采用的甲醇比例范围为30%~60%,故本试验选择流动相中甲醇比例范围为30%~60%。预试验时,发现甲醇比例较大时,主峰和杂质峰不易分离;甲醇比例较小时,主峰和杂质峰能够分离,但主峰出峰时间较长,不利于测定;当调整甲醇比例为46%时,分离度为2.38,主峰和杂质峰分离良好,保留时间适宜。因此,本试验采用甲醇-1%醋酸水溶液(46:54, V/V)为流动相。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,适用于复脉定颗粒中盐酸川芎嗪的含量测定。

参考文献

- [1] 杨琼芳,王贤英.高效液相色谱法测定复脉定颗粒中阿魏酸含量[J].儿科药杂志,2006,1(2):35.
- [2] 杨宜华,王萌萌,董凯,等.HPLC法测定注射用盐酸川芎嗪的含量[J].徐州医学院学报,2014,34(5):306.
- [3] 叶赛银,朱光辉,王军,等.高效液相色谱法测定盐酸川芎嗪的含量[J].海峡药学,2010,22(3):57.
- [4] 康雷,顾圣莹,朱冠华,等.HPLC法同时测定益气祛白颗粒中2种成分的含量[J].中国药房,2014,25(31):2918.
- [5] 李雅,郭建生.高效液相色谱法测定川麻颗粒中川芎嗪的含量[J].湖南中医药导报,2004,10(1):51.
- [6] 张伟,林凯.HPLC法测定舒胸胶囊中盐酸川芎嗪的含量[J].中成药,2006,28(6):920.

(收稿日期:2015-05-20 修回日期:2015-10-16)

(编辑:刘柳)