

产舒康颗粒中盐酸水苏碱的高效液相色谱法定量

程立方¹, 崔秀君² (1. 山东省中医药研究院, 济南 250014; 2. 济南市妇幼保健院, 济南 250001)

摘要:目的 建立产舒康颗粒中盐酸水苏碱的高效液相色谱法定量方法。方法 通过强酸性阳离子交换树脂柱得到产舒康颗粒中盐酸水苏碱。高效液相色谱法测定条件: Spherisorb SCX 柱 150 mm × 4.6 mm, 5 μm; 流动相: 甲醇-水 (60:40) 含 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾; 检测波长: 215 nm。结果 盐酸水苏碱在 1.0 ~ 5.0 μg 内线性关系良好, 平均回收率 96.21%, RSD = 2.22%, 三批颗粒中盐酸水苏碱含量分别为 0.0304%, 0.0276%, 0.0191%。结论 该方法简便、灵敏、准确, 为控制产舒康颗粒的质量提供依据。

关键词: 产舒康颗粒; 盐酸水苏碱; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.78 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)06-0496-03

Determination of Stachydrine Hydrochloride in Chanshukang Granules by HPLC

CHENG Li-fang¹, CUI Xiu-jun² (1. Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Jinan Maternity and Children Health Hospital, Jinan 250001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of stachydrine hydrochloride in Chanshukang granules. **METHODS** The substance was extracted through a strong acidic cation resin column. Determination conditions of HPLC was as follows. Stationary phase: Spherisorb SCX column 150 mm × 4.6 mm, 5 μm; mobile phase: methanol-water (60:40) containing 0.05 mol·L⁻¹ KH₂PO₄; detection wavelength: 215 nm. **RESULTS** There is a good linear relationship within the range of 1.0 ~ 5.0 μg for stachydrine hydrochloride. The average recovery was 96.21%, RSD = 2.22%, The contents in three batches were 0.0304%, 0.0276%, 0.0191%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, sensitive, accurate and provides evidence for controlling the quality of Chanshukang Granules.

KEY WORDS: Chanshukang granules; stachydrine hydrochloride; HPLC

产舒康颗粒由当归 20 g, 川芎 9 g, 益母草 20 g, 胎盘超微粉 3 g, 桃仁 6 g, 炮姜 3 g, 炙甘草 5 g 组成。当归、川芎、益母草中均含有阿魏酸^[1], 阿魏酸质控指标没有盐酸水苏碱特征性专属性强, 故应再选择盐酸水苏碱为质控指标。水苏碱 (stachydrine) 具有子宫兴奋等作用, 为本品有效成分之一。水苏碱在其他药材和制剂中含量测定方法有: 雷氏盐沉淀比色法、薄层扫描法、高效毛细管电泳法、高效液相色谱法等^[2-5]。笔者尝试使用离子交换树脂法进行样品前处理, 取得一定效果, 可作为产舒康颗粒质控方法之一。

1 实验仪器与材料

Waters 高效液相色谱系统: 600E 泵, 7725 定量进样阀, 2996 二级管阵列检测器, M32 色谱工作站。Spherisorb SCX (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 大连依利特公司。甲醇一级色谱纯, 天津四友生物医学技术有限公司; 其他试剂均为分析纯。盐酸水苏碱对照品, 含量测定用, 批号 712-200105, 中国药品生物制品检定所。产舒康颗粒三批由济南市妇幼保健院制剂室制备, 批号 20050302, 20050328, 20050415。

2 实验方法与结果

2.1 阳离子交换树脂预处理

强酸性阳离子交换树脂 45 g, 约占 60 mL 体积, 加 1 200

mL 2 mol·L⁻¹ 盐酸, 以约 1 mL·min⁻¹ 速度交换使它成为 H 型, 水洗至流出液呈中性, 再加 600 mL 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠同速度交换使它成为 Na 型, 水洗至无 Na⁺ 流出。再重复进行一次。最后用 1 mol·L⁻¹ 盐酸进行交换使它又成为 H 型, 水洗至中性, 备用。

2.2 阳离子交换树脂处理供试品溶液方法学考察

强酸性阳离子交换树脂用量考察, 取 35, 45, 55 g 树脂处理, 测试供试品溶液中盐酸水苏碱含量检查是否交换完全, 用量 45, 55 g 时其含量一致不再增加, 而用量 35 g 时其含量较低, 故用量 45 g 即可。采用甲醇-氨水洗脱, 选择比例 75:25, 85:15, 95:5 测试供试品溶液中盐酸水苏碱含量, 结果甲醇-氨水 (85:15) 效果好。选择用量 100, 150, 200, 250, 300 mL, 测试供试品溶液中盐酸水苏碱含量, 结果 200 mL 洗脱量已经洗脱完全。

2.3 供试品、阴性对照品与对照品溶液的制备

供试品溶液: 取本品 10 g, 研细, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加水 50 mL, 称定重量, 超声处理 20 min, 放冷, 再称定重量, 加水补足减失的重量, 滤过, 精密量取续滤液 20 mL, 用盐酸调 pH 至 2, 加至已处理好的强酸性阳离子交换树脂柱上, 水洗至无糖反应。再用甲醇-氨水 (85:15) 200 mL 洗

基金项目: 济南市卫生局科技计划项目 (WS20011215)

作者简介: 程立方, 男, 副研究员 Tel: (0531) 86671401 E-mail: clh01@163.com

脱。收集洗脱液, 蒸干, 残渣加 1% 盐酸甲醇溶液, 转移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜滤过, 即得; 阴性对照溶液: 取缺益母草的制剂, 同法制备阴性对照溶液; 对照品溶液: 精密称取盐酸水苏碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 中含 0.8 mg 的溶液, 即得。

2.4 检测波长的确定

盐酸水苏碱对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液, 分别在岛津 UV-365FW 上 190~400 nm 波长范围内扫描, 对照品于 215 nm 波长处有最大吸收峰, 供试品在此波长下有吸收峰, 阴性对照品在此波长下无吸收, 可确定 215 nm 为检测波长。

2.5 色谱条件与系统适应性试验

甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾水溶液 (70:30) 为流动

相; 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温 25 °C; 检测波长 215 nm; 进样量 10 μL。色谱柱理论板数计算 $t_R = 15.037 \text{ min}$, $W_{h/2} = 0.4674573$ 则 $5.54 \times (15.037/0.4674573)^2 = 5732.555547$, 分离度 1.65, 拖尾因子 0.99 符合含量测定要求。

2.6 标准曲线

精密吸取 0.8 mg·mL⁻¹ 对照品溶液 2.5, 5, 10, 15, 20 μL, 按上述色谱条件测定峰面积积分值, 以峰面积为纵座标, 对照品浓度为横座标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 904.7X + 40.7$, $r = 0.9998$ 结果显示, 盐酸水苏碱在 2~16 μg 范围内线性关系良好。

2.7 专属性试验

分别吸取缺益母草阴性对照、供试品、对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪测定, 结果见图 1, 结果显示阴性无干扰。

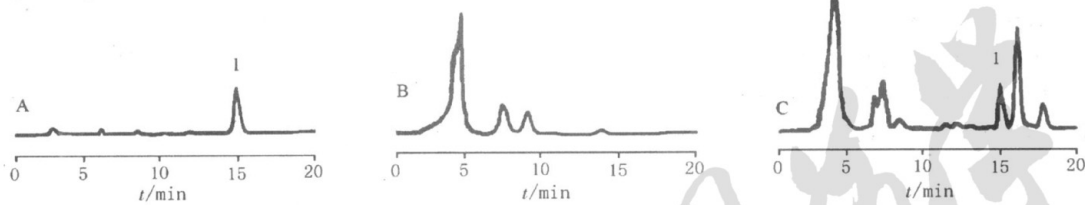


图 1 阴性对照、供试品、对照品色谱图

A. 对照品 (峰 1 盐酸水苏碱); B. 缺益母草阴性对照; C. 供试品

Fig 1 Chromatogram of standard sample, sample without herba Leonuri and sample

A. standard (peak1 stachydrine hydrochloride); B. sample without herba Leonuri; C. sample

2.8 精密度试验

取对照品溶液, 重复进样 5 次, 测定峰面积积分值, $RSD = 1.46\%$ ($n = 5$); 取供试品溶液, 重复进样 5 次, 测定其峰面积积分值, $RSD = 2.23\%$ ($n = 5$)。结果显示仪器精密度良好。

2.9 稳定性试验

取供试品溶液, 每隔 1 h 进样一次, 考查 6 h 的稳定性, 测定峰面积积分值, $RSD = 1.33\%$ ($n = 6$)。结果表明供试品溶液在 6 h 内基本稳定。

2.10 重复性试验

取批号 20050302 的产舒康颗粒 3 袋, 研细, 取 10 g 精密称定, 共 5 份, 制备供试品溶液 5 份, 测定盐酸水苏碱含量, 结果平均含量 3.0485 mg, $RSD = 2.21\%$ 。

2.11 回收率试验

取已知含量批号 20050302 本品 3 袋, 研细, 取约 5 g 精密称定, 共 5 份, 分别取约 1.5 mg 对照品, 精密称定, 分别加入 5 份供试品中, 依法测定, 计算回收率, $RSD = 2.22\%$ ($n = 5$), 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

Tab 1 Recovery of stachydrine hydrochloride

供试品 /g	供试品 含量 /mg	加样量 /mg	测定量 /mg	回收率 %	平均回收率 %
5.0073	1.5222	1.5716	3.0234	95.52	
5.0092	1.5228	1.5535	3.0747	99.90	
4.9963	1.5189	1.4609	2.9228	96.10	96.21
5.0050	1.5215	1.4322	2.8819	94.97	
5.0011	1.5203	1.5140	2.9523	94.58	

2.12 供试品的含量

取 3 个批号的产舒康颗粒, 制备供试品溶液, 测定含量, 结果见表 2。

表 2 产舒康颗粒的盐酸水苏碱含量 ($n = 5$)

Tab 2 Determination of stachydrine hydrochloride in Chanshukang Granules

批号	含量 %	RSD %
20050302	0.0304	2.01
20050328	0.0276	2.49
20050415	0.0191	2.58

3 讨论

本法区别于以往雷氏盐沉淀为基础的紫外比色法、薄层扫描法, 也与使用大孔树脂、中性氧化铝、活性炭做前处理的有差异。本法建立测定方法时, 交换和洗脱中间步骤均需检测, 一经多次试验, 方法固定后, 中间步骤无需检测, 大大简化了操作。使得本法操作方便, 灵敏度、准确性提高。适合于中成药大生产过程中中间产品和成品的质量监控。

REFERENCES

[1] QIN XM, HAO XL, ZHOU YC, et al. Identification of ferulic acid in herb Leonurus artemisia by TLC and HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2001, 32(5): 447-448

[2] LUO SR, MAIL, ZHU ZY. Separation and determination of alkaloids of Leonurus sibiricus [J]. Bull Chin Mater Med (中药通报), 1985, 10(1): 32-33

[3] TANG Y, HUANG XQ, LU YR. Determination of stachydrine in

four chinese traditional patent medicines [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1989, 9(1) : 22-23.

- [4] JIANG S Y, TIAN S J, CHEN B L, *et al*. Modern Pharmaceutical Analysis Forum (现代药物分析论坛) [M]. Hongkong: World Midio-Pharmaceutical Publishing House, 1999: 128-129.

- [5] JIANG S Y. HPLC analysis of stachydrine in Leonurus japonicus [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2001, 21 (4) : 243-244.

收稿日期: 2006-07-27