

艾附暖宫胶囊中吴茱萸次碱含量测定的研究

祁秀玲¹, 王晓琦³, 孙会昌³, 窦红允³, 曹德英² (1. 沧州医学高等专科学校, 河北 沧州 061000; 2. 河北医科大学, 石家庄 050017; 3. 沧州市食品药品检验所, 河北 沧州 061000)

摘要: 目的 采用高效液相色谱法, 建立吴茱萸次碱的含量测定方法。方法 选择合适的固定相, 调整流动相组成、配比、流速以及柱温, 在最大吸收波长下测定, 使指标峰分离完全, 理论塔板数符合要求。配制系列浓度的对照品溶液, 以色谱峰的峰面积为纵坐标, 以进样浓度为横坐标, 进行线性回归, 得回归曲线并考察线性范围。分别考察测定方法的精密性、重现性、稳定性和加样回收率。取3批样品分别测定指标成分的含量。结果 吴茱萸次碱色谱条件为: Thermo (200 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相: 0.04% 辛烷磺酸钠-乙腈(45:55), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 345 nm。吴茱萸次碱在 8.52~85.2 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好, *r* 为 0.999 8。该方法精密性、中间精密性、耐用性、重复性、在 12 h 内稳定性和加样回收率的 RSD 分别为 0.37%、0.87%、1.02%、1.34%、1.24%、0.41%, 加样回收率为 99.6%, 样品中吴茱萸次碱含量不低于 0.067 mg·粒⁻¹。结论 以公认的有效成分作为含量测定指标, 采用高效液相色谱法进行检测, 准确度高, 专属性强, 重复性好, 能有效控制制剂质量。

关键词: 艾附暖宫胶囊; 含量测定; 高效液相色谱法; 吴茱萸次碱

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)07-0647-03

Study of Determination of Rutecarpine in Aifunuangong Capsule

QI Xiuling¹, WANG Xiaoqi³, SUN Huichang³, DOU Hongyun³, CAO Deying² (1. Cangzhou Medical College, Cangzhou 061000, China; 2. Medica University of Hebei, Shijiazhuang 050017, China; 3. Cangzhou Institute for Food and Drug Control, Cangzhou 061000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Setting the method of measuring the content of Rutecarpine by using highly-effective liquid chromatography. **METHODS** Choosing proper stationary phase and adjusting the components, proportion, flow rate of mobile phase and column temperature in the condition of wavelength (nm) max to make theoretical plate number meet the standard. Preparing reference substance solution of different concentration, performing linear regression with chromatographic peak area as y-axis and sampling concentration as x-axis to get curvilinear regression and investigating linearity range. Investigating precision, ruggedness, stability and sample recovery rate of the method. Determining the content of components in three batches of samples according to the methods mentioned above. **RESULTS** The concentration of rutaecarpin was determined using a HPLC system at the wavelength of 345 nm. The separation was achieved by using a Thermo column (200 mm×4.6 mm, 5 μm), at a rate of 0.8 mL·min⁻¹. The temperature of column was 25 °C. The mobile phase consisted of 0.04% octane sodium alkane sulphonate and acetonitrile at a ratio of 45 : 55, with a good linear relationship among 8.52~85.2 μg·mL⁻¹, *r* is 0.999 8. The RSD% of precision, precision in middle, durable property, reproducibility, the stability within 12 hours and analytical recovery were 0.37%, 0.87%, 1.02%, 1.34%, 1.24%, 0.41%, respectively. The analytical recovery was 99.6%. It was no less than 0.067mg in per granule of the content of Rutecarpine. **CONCLUSION** Regarding the accepted active ingredients as a target of determining the content, using highly-effective liquid chromatography to measure rutecarpine, has good accuracy, exdusivity repeatability and the method is able to ensure the quality.

KEY WORDS: aifunuangong capsule; method of measuring the content; HPLC; rutecarpine

艾附暖宫丸由艾叶、香附等组成, 具有理气补血、暖宫调经的功效, 用于治疗子宫虚寒、月经不调、经来腹痛、腰酸带下等病症。本研究通过优化设计, 将丸剂制成胶囊剂, 制定质量标准, 对芍药苷、吴茱萸次碱进行含量测定研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

XS105 型电子分析天平(万分之一), AS3120 型超声波清洗仪(天津奥特塞恩斯有限公司), LC-2010AHT230V 液相色谱仪(日本岛津), 8453 型紫外分光光度计(安捷伦), 安捷伦 1100 液相色谱仪, 安捷伦 Zorbax SB-C₁₈, Accurasil C₁₈。

作者简介: 祁秀玲, 女, 硕士, 副教授, 高级工程师

Tel: (0317)5308065

E-mail: wansuiqx1@163.com

1.2 试药

艾附暖宫胶囊(自制,规格为每粒 0.5 g,批号为 20090701、20091001、20091002、20091003),吴茱萸次碱(中国生物制品检定所,批号:802-9401,纯度:100%)。乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取研细的胶囊内容物 2.0 g,精密称定,置 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 300 W,频率 50 kHz) 30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液即得^[1]。

2.2 对照品溶液的制备

取干燥至恒重的吴茱萸次碱,加甲醇,制成浓度为 $42.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的吴茱萸次碱对照品溶液。

2.3 阴性样品液的制备

取不含吴茱萸(制)的阴性制剂,按“2.1”项下方法制备,作为阴性样品溶液。

2.4 色谱条件

将对照品溶液在 200~400 nm 范围内扫描,得扫描曲线,结果见图 1。选择合适的固定相,调整流动相的组成、配比、流速以及柱温,在最大吸收波长处测定,使指标峰分离完全、理论塔板数符合要求。

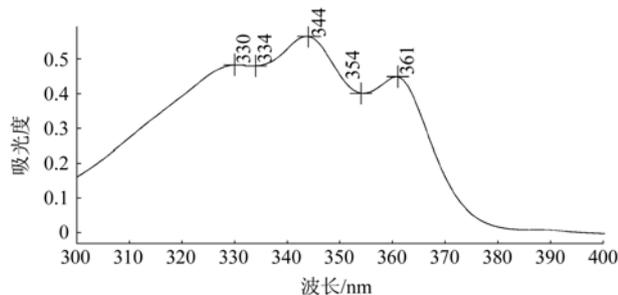


图 1 吴茱萸次碱的最大吸收波长扫描图

Fig 1 The scangram of maximum absorption wavelength for Rutecarpine

试验可知吴茱萸次碱的最大吸收波长为 345 nm。使用 Thermo(200 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,流动相:0.04%辛烷磺酸钠-乙腈(45:55),流速 $0.8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 25 °C 时吴茱萸次碱峰与其他峰分离良好,分离度 >1.5,阴性对照实验表明其他组分峰对吴茱萸次碱峰无干扰,理论塔板数按吴茱萸次碱计为 6 000。色谱图见图 2。

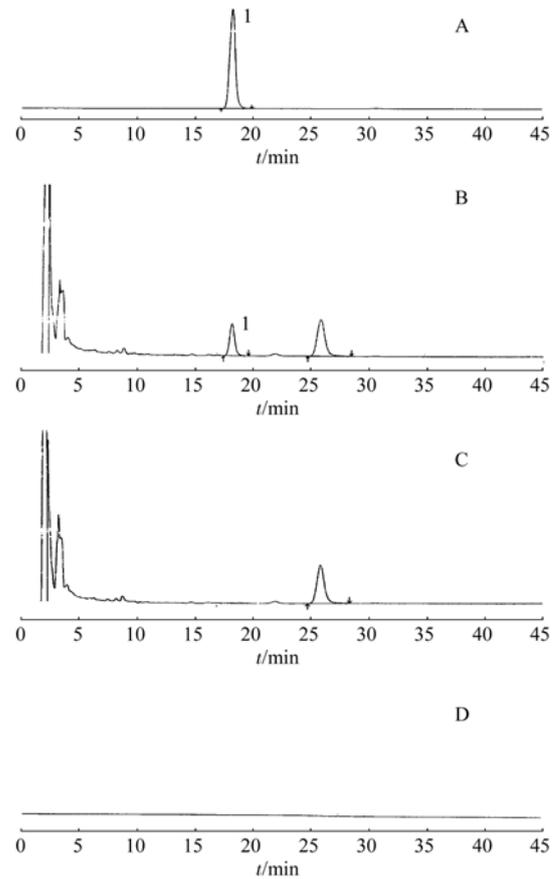


图 2 高效液相色谱图

A-吴茱萸次碱标准品; B-样品中吴茱萸次碱; C-阴性样品中吴茱萸次碱; D-吴茱萸次碱空白溶剂; 1-吴茱萸次碱

Fig 2 HPLC chromatogram

A-standard of Rutecarpine; B-sample of Rutecarpine; C-negative sample of Rutecarpine; D-blank solvent of Rutecarpine; 1-Rutecarpine

2.5 线性关系的考察

取对照品溶液($42.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),不同浓度分别进样,测定吸收峰,以进样吴茱萸次碱的量为横坐标,所对应的峰面积为纵坐标,进行线性回归,峰面积对吴茱萸次碱的回归方程为 $Y=13\ 656C+8\ 602\ 097$, $r=0.999\ 8$,吴茱萸次碱在 $8.52\sim 85.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

2.6 仪器适应性试验

分别取同一供试品溶液,连续进样 6 次,测定峰面积,计算 RSD 为 0.37%。

2.7 精密度试验

取同一批样品,按“2.1”项下方法制备 6 份供试品溶液,进样,测定峰面积,计算吴茱萸次碱峰面积的 RSD 为 1.34%。使用安捷伦高效液相色谱仪,两人分 2 d 测定同一批样品,计算 RSD 为 0.87%。

2.8 稳定性考察

取供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 测定峰面积, 计算吴茱萸次碱峰面积的 RSD 为 1.24%。样品溶液在 12 h 稳定。

2.9 加样回收率

取已知含量的样品 6 份, 精密称定, 分别加入对照品溶液(0.04 mg·mL⁻¹)5 mL, 按供试品溶液的制法制成, 进样, 测定加样回收率, 样品的平均回收率为 99.6%, RSD 为 0.41%。结果见表 1。

表 1 吴茱萸次碱的加样回收率测定结果

Tab 1 The results of recovery test of Rutecarpine

取样量/ g	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1.091 7	0.199 8	0.200 0	0.399 2	99.7	99.6	0.41
1.093 4	0.200 1	0.200 0	0.398 9	99.4		
1.097 9	0.200 9	0.200 0	0.398 8	99.0		
1.089 7	0.200 0	0.200 0	0.399 5	99.8		
1.085 7	0.199 4	0.200 0	0.398 3	99.4		
1.091 1	0.199 7	0.200 0	0.400 2	100.2		

2.10 耐用性试验

分别使用安捷伦 Zorbax SB-C₁₈、AccurasilC₁₈ 色谱柱, 考察不同牌号色谱柱对色谱峰的影响, 结果表明, 吴茱萸次碱色谱峰与其他峰分离度均 >1.5, 理论塔板数均 >6 000, 测试结果 RSD 为 1.02%。

2.11 样品测定

按“2.1”项下方法制备方法, 测定 3 批样品中吴茱萸次碱的含量, 结果见表 2。通过 3 批样品的测定, 可知吴茱萸次碱的平均含量为 0.083 6 mg·粒⁻¹, 考虑药材的差异, 制备过程中的差异, 测量中的误差, 规定胶囊中吴茱萸次碱的含量限度指标下浮 20%, 即 ≥0.067 mg·粒⁻¹。

表 2 样品中吴茱萸次碱的含量测定(n=3)

Tab 2 The contents of Rutecarpine in sample(n=3)

批号	样品含量/mg·粒 ⁻¹
20091001	0.083
20091002	0.084
20091003	0.084
平均	0.084

3 讨论

中药制剂的化学成分复杂, 有效成分类型很多, 在质量标准研究中, 尽量以君药和臣药所含

的明确成分作为含量指标, 也要考虑可控成分是否是药物主要有效成分, 还要考虑该指标能否对药物提取的完全与否起到控制作用。本质量标准研究共测定芍药苷和吴茱萸次碱两个指标, 其中芍药苷的色谱条件和药典中艾附暖宫丸中芍药苷的色谱条件相同, 笔者对该方法进行了线性范围和方法学考察, 结果表明芍药苷在 12.216~122.16 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性、加样回收率试验 RSD 值均符合要求。同时对 3 批样品进行了含量测定, 3 批样品平均含量为 1.38 mg·粒⁻¹。由于测定方法和药典方法相似, 故本文未进行详述。而吴茱萸尽管是佐药, 但其温暖胞宫、散寒止痛的作用非常显著, 发挥此疗效的主要成分是吴茱萸次碱和其中的挥发油成分^[1], 吴茱萸提取时其主要成分吴茱萸次碱不易提取完全, 故必须对其提取效果进行控制, 方能保证疗效, 因此本研究制定了吴茱萸次碱的含量测定方法。在流动相的选择上, 本研究选择了辛烷磺酸钠作为离子对试剂, 依据是吴茱萸次碱为正离子, 辛烷磺酸钠为负离子, 两者形成离子对, 改变了原有药物吴茱萸次碱的极性及其溶解行为, 改变保留时间, 有利于被测成分吴茱萸次碱的分离。本方法与文献[2]相比, 分离度更高, 与药典相比所选波长更适合吴茱萸次碱的含量测定, 且能减少乙腈的用量。

中药制剂不同于化药制剂, 在制定质量标准时, 指标的确定以 3 批样品含量平均值标下浮 20% 作为控制指标, 但是对制剂用的中药材的相应含量是以药典上相应药材的标准进行检测, 而对于一般药材含量指标而言药典标准只有下限没有上限, 因此指标的确定确实受选用的实验药材含量影响, 这也是目前中药制剂质量标准研究中普遍存在的一个问题。为保证中药产品质量, GAP 的施行势在必行。

REFERENCES

- [1] ZHEN P, ZHANG R S, BAI X M, et al. Study on the optimum extraction conditions of evodiamine and rutaecarpine in Evodia rutaecarpa by HPLC [J]. Chin Pharm J(中国药杂志), 2005, 40(2): 99-101.
- [2] ZHANG L, LI Q Y, HU B L. Determination of Rutecarpine in Aifunuangong pill [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006, 28(8): 1239-1240.

收稿日期: 2011-12-21