

文章编号: 1000-5013(2012)04-0417-03

调经益母胶囊中盐酸水苏碱的 HPLC 测定

叶静, 肖美添, 张学勤, 黄雅燕

(华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 建立一种调经益母胶囊中盐酸水苏碱含量的离子交换高压液相色谱(HPLC)测定方法. 色谱条件: 色谱柱为 Hypersil SCX(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 12 mmol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(含体积分数为 0.02% 三乙胺和体积分数为 0.2% 冰乙酸); 检测波长为 192 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 30 ℃. 实验结果表明: 盐酸水苏碱在 0.162 8~0.814 0 μg 范围内呈良好的线性关系($r=0.999\ 95$), 平均加样回收率为 97.31%, 峰面积积分值的相对标准偏差为 0.88% ($n=6$).

关键词: 高效液相色谱法; 调经益母胶囊; 盐酸水苏碱; 益母草

中图分类号: R 927; O 657.72

文献标志码: A

调经益母胶囊系由国家标准品种“调经益母片”改剂型而得, 由益母草、冰糖草和丹参 3 味中药组成, 具有调经活血, 祛瘀生新之功效, 多用于月经不调、经期腹痛、产后瘀血不清和子宫收缩不良等症. 原标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂 12 册, 未标示处方中任一药味的含量. 目前相关文献也无关于调经益母胶囊相关制剂的含量测定报道. 益母草的主要成分是盐酸水苏碱, 而有关盐酸水苏碱含量的测定方法已有较多报道, 如施法等^[1]采用 HPLC 法测定益母草胶囊中盐酸水苏碱的含量; 汪祺等^[2]采用高效液相色谱法测定益母丸中盐酸水苏碱的含量; 朱友林^[3]采用 HPLC 法测定癉闭舒胶囊中盐酸水苏碱的含量; 刘炜等^[4]采用 HPLC 测定复方益母口服液中的盐酸水苏碱质量分数. 本文采用离子交换 HPLC 法对调经益母胶囊中的盐酸水苏碱含量进行测定.

1 实验部分

1.1 仪器

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津公司, SPD-10AVP 检测器, Class-VP 工作站); KQ-250E 型超声波清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司), AE-240 电子天平(瑞士梅特勒公司).

1.2 试剂

1) 对照品溶液: 精密称定适量的对照品盐酸水苏碱(批号 110712-200709, 中国药品生物制品检定所), 加乙醇制成每 1 mL 约含 30 μg 的溶液.

2) 供试品溶液: 取装量差异项下的调经益母胶囊(自制, 0.42 g·粒⁻¹)内容物, 混匀, 研细; 精密称定 1.5 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入乙醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(100 W, 50 kHz)30 min, 放冷; 再称定质量, 用乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10.0 mL, 过氧化铝-活性炭柱(碱性氧化铝 4 g, 上覆层析用 40~60 目活性炭 1.5 g); 收集洗脱液 5 mL, 蒸干, 残渣用流动相定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液.

3) 阴性样品溶液: 按制剂处方比例, 取不含益母草药材的阴性样品 1.5 g, 精密称定, 按供试品溶液制备方法操作, 制备阴性样品溶液.

4) 磷酸二氢钾、三乙胺和冰乙酸(美国 Sigma 试剂有限公司), 二次蒸馏水, 其他试剂均为分析纯.

收稿日期: 2011-09-09

通信作者: 叶静(1980-), 女, 讲师, 主要从事天然产物活性成分提取及分析的研究. E-mail: yejenny@hqu.edu.cn.

基金项目: 中央高校基本科研业务费资金资助项目, 华侨大学国家自然科学基金培育计划项目(JB-ZR1154)

2 实验结果与分析

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 流动相 采用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐溶液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钠溶液,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠溶液调节 pH 值至 5.5)作为流动相^[5],样品中盐酸水苏碱色谱峰与相邻色谱峰未达基线分离.通过调整流动相的 pH 值,以 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钾溶液(含有体积分数为 0.02% 三乙胺和体积分数为 0.2% 冰乙酸)作为流动相,此时盐酸水苏碱与其他成分之间的分离效果最好.

2.1.2 检测波长 对盐酸水苏碱对照品的乙醇溶液进行光谱扫描,结果盐酸水苏碱的最大吸收波长在 192 nm,故采用 192 nm 作为检测波长.

2.1.3 柱温 考察柱温为 25,30,40 °C 时对分离效果的影响,结果以 30 °C 时分离效果最好,因此选择柱温为 30 °C.

2.1.4 提取条件的确定 分别考察提取溶剂(乙醇、质量分数为 60% 乙醇和甲醇)和提取方法(静置过夜、超声提取和加热回流)对样品中盐酸水苏碱的提取效率,结果表明采用乙醇超声提取效率最高,同时节省时间.采用单因素实验考察了不同的超声提取时间(15,30,60 min)、超声提取次数(1,2,3 次)和提取溶剂的用量(25,50,100 mL)对提取效率的影响,结果表明采用 25 mL 乙醇超声提取 30 min 时,可将样品中的盐酸水苏碱基本提取完全.

2.2 样品的精制

采用氧化铝-活性炭柱法精制样品,除杂效果明显,且盐酸水苏碱因其水溶性极强,不易被固定相吸附,回收率高.

2.3 色谱分析

取盐酸水苏碱对照品溶液、调经益母胶囊供试品溶液和阴性样品溶液各 $10 \mu\text{L}$,分别进行高效液相色谱分析,如图 1 所示.色谱条件:色谱柱为 Hypersil SCX ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$);流动相为 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钾溶液(含有体积分数为 0.02% 三乙胺和体积分数为 0.2% 冰乙酸);流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长为 192 nm;柱温为 30 °C.

从图 1 可知:样品中其他成分对盐酸水苏碱的质量分数测定无干扰,盐酸水苏碱色谱峰与相邻色谱峰分离度大

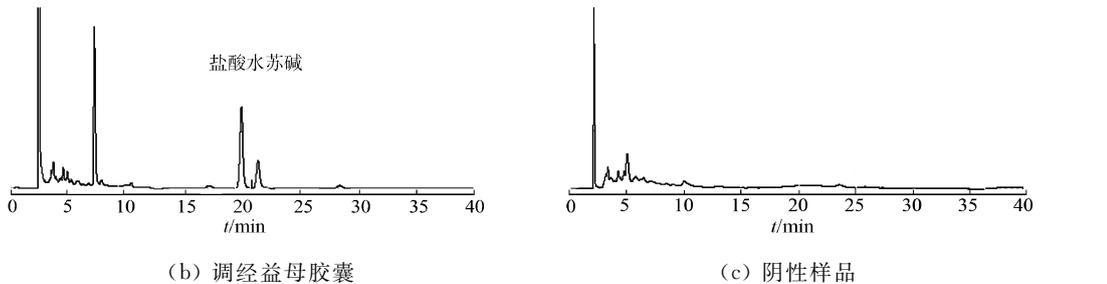


图 1 调经益母胶囊的高效液相色谱谱图

Fig. 1 High performance liquid chromatography of Tiao Jing Yimu capsules

于 1.5,理论板数按盐酸水苏碱峰计算应不低于 5 000.

2.4 线性关系考察

分别量取浓度为 $32.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸水苏碱对照品溶液 5.0,10.0,15.0,20.0,25.0 μL 注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定盐酸水苏碱峰面积的积分值.以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标,进行线性回归,得回归方程: $Y=1.395 \times 10^5 X - 1.102 \times 10^3$ ($r=0.99995$).表明盐酸水苏碱进样量在 0.1628~0.8140 μg 范围内呈良好的线性关系.

2.5 精密度、稳定性与重复性试验

吸取浓度为 $32.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸水苏碱对照品溶液 10 μL ,重复进样 5 次,按上述色谱条件进

行测定,结果峰面积积分值的相对标准偏差(RSD)为0.39%。

吸取供试品溶液,分别于配制后0,2,4,8,12,24 h进样10 μL ,依法测定,结果峰面积积分值 RSD 为0.64%,表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

取同一批样品(批号2010100601)6份,分别按制备供试品溶液的方法制备,结果测得样品中盐酸水苏碱质量的平均值14.165 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD为0.79%。

2.6 加样回收率试验

称取与上同一批号的样品6份,分别加入质量浓度为0.4048 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸水苏碱对照品溶液25.0 mL,进样测定,计算回收率。结果表明:平均回收率为97.31%,RSD为0.88 ($n=6$)。

2.7 样品质量分数测定

分别对6批样品进行盐酸水苏碱的含量(ρ)测定,结果如表1所示。

表1 样品测定结果($n=3$)

Tab.1 Analytical results of the sample ($n=3$)

样品批号	2010100601	2010100602	2010100603	2010100801	2010100802	2010100803
$\rho/\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$	5.949	5.211	5.397	4.981	4.790	5.235
RSD/%	0.67	0.53	0.41	0.52	0.59	0.64

3 结束语

采用离子交换 HPLC 法,对调经益母胶囊中君药益母草所含盐酸水苏碱的含量进行测定。该法简单、准确,重现性好,可作为调经益母胶囊的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 施法,段瑞,马晓璐. HPLC法测定益母草胶囊中盐酸水苏碱的含量[J]. 中国药品标准,2008,9(4):307-309.
- [2] 汪祺,鲁静. 高效液相色谱法测定益母丸中盐酸水苏碱含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(4):710-712.
- [3] 朱友林. HPLC法测定癉闭舒胶囊中盐酸水苏碱的含量[J]. 中国药房,2011,22(16):1509-1511.
- [4] 刘炜,曾蔚欣,王建华. HPLC测定复方益母口服液中的盐酸水苏碱[J]. 华西药理学杂志,2010,25(2):200-201.
- [5] 姜舜尧. 益母草药材中水苏碱成分的高效液相色谱法分析[J]. 药物分析杂志,2001,21(4):243-247.

Determination of Stachydrine Hydrochloride in Tiaojing Yimu Capsules by Ion-Exchange HPLC Method

YE Jing, XIAO Mei-tian, ZHANG Xue-qin, HUANG Ya-yan

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: In this paper, a determination method was established to determine the content of stachydrine hydrochloride in Tiaojing Yimu capsules by using an ion-exchange high performance liquid chromatography (HPLC). The chromatographic conditions were: the chromatographic column was Hypersil SCX (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); the mobile phase was 12 mmol \cdot L $^{-1}$ monopotassium phosphate (comprising 0.02% triethylamine and 0.2% acetic acid); the detection wavelength was set at 192 nm; the flow rate was 1.0 mL \cdot min $^{-1}$ and the column temperature was controlled at 30 $^{\circ}\text{C}$. Results showed that the calibration curves for stachydrine hydrochloride showed good linearity in the range of 0.1628~0.8140 μg ($r=0.99995$), and the average recovery rate was 97.31%, with RSD=0.88% ($n=6$).

Keywords: high performance liquid chromatography; Tiaojing Yimu capsules; stachydrine hydrochloride; *Leonurus japonicus* Houtt.