

HPLC 法测定茺莢和胃止痛胶囊中 吴茺莢碱和吴茺莢次碱的含量

麻秀萍, 李江^{*}, 刘英波

(贵阳中医学院 药理学系, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定中药新药茺莢和胃止痛胶囊中吴茺莢碱和吴茺莢次碱的含量。方法: 色谱柱为 Eclipse XDB-C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (45: 55), 柱温 30 ℃, 检测波长为 250 nm。结果: 吴茺莢碱和吴茺莢次碱的线性范围分别为 0.051 0~0.560 0, 0.050 8~0.559 μg, 平均回收率分别为 97.5% (RSD 1.0%), 98.7% (RSD 1.5%)。结论: 该法专属性强, 准确稳定, 重复性好, 可作为茺莢和胃止痛胶囊的质量控制方法。

[关键词] 茺莢和胃止痛胶囊; 高效液相色谱法; 吴茺莢碱; 吴茺莢次碱

茺莢和胃止痛胶囊是国家名老中医药专家邱德文教授在《备急千金要方》茺莢汤的基础上, 结合长期临床经验和现代中药研究成果研制而成的中药新药, 该药具有温中止痛, 和胃化湿, 降逆止呕的功能, 用于因寒引起的胃脘疼痛, 噎气吞酸, 胀满以及胃酸过多, 胃溃疡, 反流性食管炎, 呕吐等。全方由吴茺莢、木瓜、生姜和冰片组成, 方中君药是吴茺莢, 含生物碱类、柠檬苦素类、挥发油等多种化合物^[12]。生物碱类具有镇痛抗炎、止吐、抗溃疡、调整功能异常的肠道运动、抗缺氧等作用^[3], 是本品的有效成分, 又具有较强的专属性, 在相关文献的基础上^[45], 本文建立了测定茺莢和胃止痛胶囊中吴茺莢碱和吴茺莢次碱含量的高效液相色谱法, 为控制本品质量提供了方法。

1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (在线脱气机、二元泵、二极管阵列检测器、自动进样器、智能恒温柱温箱、Agilent 化学工作站); CX-250 型超声波清洗器 (功率 250 W, 频率 34 kHz, 北京市医疗设备二厂); 吴茺莢碱对照品 (802-9401)、吴茺莢次碱对照品 (0802-9702), 均由中国药品生物制品检定所提供;

乙醇为分析纯; 乙腈为色谱纯; 水为纯净水。茺莢和胃止痛胶囊 (批号为 20050802, 20050901, 20050902, 20050903) 自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 Eclipse XDB-C18 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 以乙腈-水 (45: 55) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 ℃, 检测波长 250 nm, 供试品中吴茺莢碱峰和吴茺莢次碱峰与其他色谱峰得到较好分离, 峰形较好, 理论板数按吴茺莢碱峰计应不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取吴茺莢碱和吴茺莢次碱对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.05, 0.06 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取胶囊内容物, 研细, 精密称取 0.5 g 精密加入乙醇 25 mL, 称重, 超声处理 30 min 取出, 放至室温, 称重, 用乙醇补足减失重, 摇匀, 滤过, 取滤液即得。

2.4 专属性考察 按 2.3 项供试液制备方法, 制得缺吴茺莢药材的阴性对照溶液, 并进样分析, 结果阴性无干扰, 见图 1。采用二极管阵列检测器进行峰纯度检查, 在供试品色谱图中吴茺莢碱峰和吴茺莢次碱峰的 UV 图谱与对照品 UV 图谱一致, 均为纯峰。

2.5 线性关系考察 取吴茺莢碱 (0.203 8 g · L⁻¹) 和吴茺莢次碱 (0.203 4 g · L⁻¹) 的对照品溶液, 分别精密吸取对照品溶液 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 5.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别取上述对照品溶液, 进样 5 μL 测定, 以对照品进样量

[稿件编号] 20100722008

[基金项目] 贵州省中药现代化项目 (黔科合农字 [2006]5020 号)

[通信作者] * 李江, 教授, 主要从事中药制剂教学和科研工作, Tel 13984044866

[作者简介] 麻秀萍, 副教授, 主要从事分析化学和中药制剂分析教学和科研工作, Tel (0851) 5601577, E-mail mxp001130@ sina.com.cn

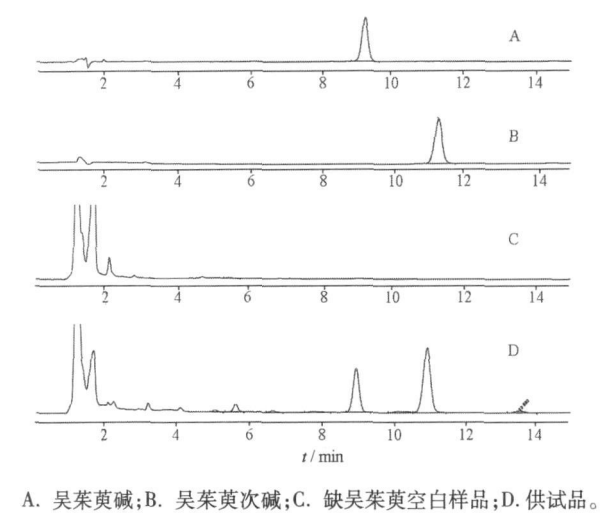


图 1 对照品和供试品 HPLC 图

为横坐标 (X), 峰面积值为纵坐标 (Y), 得吴茱萸碱回归方程 $Y=2185.987X-0.6905$ $r=0.9999$ ($n=6$); 吴茱萸次碱回归方程 $Y=3097.16X-2.18827$ $r=0.9999$ ($n=6$). 结果表明吴茱萸碱和吴茱萸次碱进样量分别在 $0.0510\sim0.5600$ $0.0508\sim0.559\mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

表 1 茱萸和胃止痛胶囊中吴茱萸碱和吴茱萸次碱加样回收试验测定 ($n=6$)

取样量 /g	样品中的量 /mg		测得量 /mg		回收率 /%		平均回收率 /%		RSD /%	
	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
0.2500	0.7082	0.8529	1.3956	1.7175	96.4	96.6				
0.2509	0.7107	0.8559	1.4086	1.7500	97.8	99.9				
0.2505	0.7096	0.8546	1.3997	1.7250	96.7	97.2	97.5	98.7	1.0	1.5
0.2508	0.7105	0.8556	1.4084	1.7445	97.8	99.3				
0.2513	0.7119	0.8573	1.4187	1.7564	99.1	100.5				
0.2507	0.7102	0.8553	1.4032	1.7388	97.1	98.7				

注: 加入量吴茱萸碱均为 0.7133 mg 吴茱萸次碱均为 0.8950 mg

表 2 样品含量测定 ($n=3$)

批号	吴茱萸碱平均 质量分数 /mg·g ⁻¹	吴茱萸次碱 平均质量分数 /mg·g ⁻¹	每粒总平均量 /mg	RSD /%
050901	2.30	3.01	2.12	0.54
050902	2.04	2.66	1.88	0.91
050903	2.10	2.71	1.93	0.76

注: 茱萸和胃止痛胶囊的规格为每粒 0.40 g

3 讨论

3.1 供试品前处理方法的考察 由于本品采用水提醇沉工艺, 吴茱萸碱和吴茱萸次碱几乎不溶于水,

2.6 精密度试验 分别精密吸取供试品溶液 5 μL , 连续进样 6 次, 测得吴茱萸碱和吴茱萸次碱峰面积 RSD 值均为 0.55%。

2.7 重复性试验 取同一批号的茱萸和胃止痛胶囊 (批号 20050802), 按 2.3 项制备 6 份供试品溶液, 按上述色谱条件测定其中的吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量平均值分别为 2.8328, 3.4112 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 分别为 0.95%, 0.41%。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定其峰面积, 测得吴茱萸碱和吴茱萸次碱峰面积 RSD 值均为 1.8%。表明供试品溶液至少在 10 h 内稳定。

2.9 加样回收试验 取批号为 20050802 的茱萸和胃止痛胶囊 6 份, 各约 0.25 g 精密称定, 分别精密加入吴茱萸碱和吴茱萸次碱对照品溶液适量, 按 2.3 项制备供试液, 在上述色谱条件下测定含量, 计算回收率, 见表 1。

2.10 样品含量测定 取 3 批茱萸和胃止痛胶囊按 2.3 项制备供试液, 取供试品溶液和对照品溶液分别注入液相色谱仪测定, 见表 2。

易溶于乙醇, 故在制备供试品溶液时, 选择乙醇为溶剂, 采用超声提取法。本文还对超声处理时间 30, 60, 90 min 进行了比较, 结果无明显差异, 故超声处理时间选用 30 min。

3.2 检测波长的选择 在 190~400 nm 波长下扫描, 吴茱萸碱和吴茱萸次碱的最大吸收波长分别为 215, 320 nm, 但其他色谱峰干扰较大, 而在 250 nm 波长处吴茱萸碱和吴茱萸次碱吸收峰灵敏度较高, 其他色谱峰干扰较小, 故选用 250 nm 作为本品的检测波长。

3.3 色谱条件的选择 本文考察了 3 种色谱柱:

Hypersil ODS (4.0 mm × 250 mm, 5 μm, Agilent) 色谱柱; Dimonsil™ C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 迪马公司) 色谱柱; Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm, Agilent) 色谱柱, 均可分离, 以 Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm, Agilent) 为色谱柱分离时, 吴茱萸碱和吴茱萸次碱峰与前后色谱峰分离度、峰对称性较好。

在对流动相的选择时, 分别比较了乙腈-水 (51:49), 甲醇-水 (70:30), 乙腈-水 (45:55), 结果以乙腈-水 (45:55) 为流动相时, 供试品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱与其他成分得到较好分离。

通过系统的方法学验证试验, 表明该含量测定

方法专属性强, 准确稳定, 前处理方法操作简单, 可作为该制剂的质量控制方法。

[参考文献]

[1] 王奇志, 梁敬钰. 吴茱萸化学成分研究 [J]. 药学学报, 2004, 39 (8): 605

[2] 鲁燕侠, 蔺兴遥, 逯振宇, 等. 吴茱萸的化学成分及临床应用 [J]. 解放军药学学报, 2002, 18 (4): 218

[3] 王浴生, 邓文龙, 薛春生, 等. 中药药理与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000 541

[4] 甄攀, 王治宝, 白雪梅, 等. 吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的 HPLC 分析 [J]. 中成药, 2004 (3): 227.

[5] 洪玉梅, 范强, 王智民, 等. 吴茱萸及其炮制品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量比较 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (7): 559

Determination of evodiamine and rutacarpine in Zhuyu Hewei Zhitong capsules by HPLC

MA Xiuping, LI Jiang*, LU Yingbo
(Guizhou College of Traditional Chinese Medicine, Guizhou 550002, China)

[Abstract] **Objective** To develop a HPLC method for the determination of evodiamine and rutacarpine in Zhuyu Hewei Zhitong capsules. **Method** The separation was performed at 30 °C on an Eclipse XDB-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) eluted with the mobile phase consisted of acetonitrile-water (45:55). The detection wavelength was 250 nm. **Result** The standard curve for evodiamine is linear in the range of 0.051-0.560 μg, the average recovery was 97.5% (RSD 1.0%). The standard curve for rutacarpine is linear in the range of 0.0508-0.559 μg, the average recovery was 98.7% (RSD 1.5%). **Conclusion:** The method is specific, accurate and stable. It can be used for determination of evodiamine and rutacarpine in Zhuyu Hewei Zhitong capsules.

[Key words] Zhuyu Hewei Zhitong capsules; HPLC; evodiamine; rutacarpine

doi 10.4268/cjmm.20110711

[责任编辑 周驰]