

• 药剂

高效液相色谱法测定复方川芎胶囊中川芎嗪的含量

兰 顺

(广西壮族自治区人民医院, 广西南宁 530021)

摘要: 目的: 建立复方川芎胶囊中川芎嗪的含量测定方法。方法: 用 80% 甲醇溶液提取, 以 Novapak C₁₈ 色谱柱 (3.9mm × 300mm, 4μm) 为固定相, 甲醇-水 (50: 50v/v) 为流动相, 检测波长为 282nm。结果: 川芎嗪在 5~ 40μg·ml⁻¹ 范围内呈良好的线性关系, $r = 0.9996$; 平均回收率为 99.0%, RSD= 1.2%; 日内精密性是 RSD= 0.6%。结论: 方法能消除其它成分的干扰, 准确可靠、重现性好, 操作简便快速。

关键词: 川芎嗪; 复方川芎胶囊; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)05-0001-03

Determination of Tetramethylpyrazine in Fufang Chuanxiong Capules by HPLC

LAN Shun

(People's Hospital of Guangxi Zhuang Automatic Region, Nanning 530021, China)

Abstract: Objectivt: To establish a detemining method for Tetramethylpyrazine(TMP) in Fufang Chuanxiong Capules by high-perfomance liquid chromatography. Methods: Tetramethylpyrazine was extracted from Fufang Chuanxiong Capules by 80% methanol. Novapak C₁₈ colum (3.9mm × 300mm, 4μm) was used as stationary phase, methanol-H₂O (50: 50v/v) was used as mobile phase, the flow rate was 0.7mL·min⁻¹ and the wavelength of detection was at 282nm. Results: The calibration curve was showed good linearity within the concentration range of 5~ 50 μg·mL⁻¹ $r = 0.9996$, the average recovery was 99.0%, RSD= 1.2%. Conclusion: The established method is accurate, precise and simple.

Key words: Tetramethylpyrazine; Fufang Chuanxiong Capules; HPLC

复方川芎胶囊是由当归、川芎两种成分组成, 可降低心肌耗氧量, 增加冠脉流量, 改善心肌供氧, 抑制血小板凝集和血栓的形成。临床上用于冠心病稳定型心绞痛属心血瘀阻症者。川芎嗪为川芎的主要有效成分之一, 具有抑制血小板凝集, 改善血液微循环的作用^[1,2], 为了考察该产品的质量, 我们以川芎嗪为控制指标, 参考有关文献^[3,4], 建立了高效液相色谱法测定复方川芎胶囊的川芎嗪含量, 为控制该药品质量提供一种简便快速、结果准确可靠的定量分析方法。

1 仪器与试药

Waters 液相色谱仪, 510 紫外检测器, 7725i 进样阀, 色谱工作站; 盐酸川芎嗪对照品 (中国药品生物制品检定所); 复方川芎胶囊 3 批 (山东凤凰制药有限公司, 批号 0206201, 0212201, 0307201) 为市售药品; 甲醇为色谱纯; 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Novapak C₁₈ 柱 (3.9mm × 300mm, 4μm); 流动相: 甲醇-水 (50: 50v/v), 柱温 40℃, 流速 0.7mL·min⁻¹, 检测波长 282nm; 进样量 20μL。在此色谱条件下所得色谱图见图 1, 结果表明川芎嗪色谱峰与其它成分色谱峰分离效果良好。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的盐酸川芎嗪对照品适量, 加 80% 甲醇溶液配制成每 1mL 含 0.5mg 的溶液, 作为对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备 取复方川芎胶囊 20 粒, 倒出其内容物, 精密称定, 得平均每粒胶囊内容物的重量。将以上内容物研细混匀, 精密称定约 0.5g, 置 100mL 具塞锥形瓶中, 每次加入 80% 甲醇溶液 20mL, 超声提取 25min, 共提取 2 次, 残渣用 3~ 5mL 80% 甲醇溶液洗涤, 合并提取液, 置 100mL 量瓶中, 用 80% 甲醇溶液稀释至刻度, 得供试品溶液。

2.4 线性关系的考察 精密量取对照品储备液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8mL, 分别置于 10mL 量瓶中, 用 80% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样 20μL。进行色谱分析, 记录色谱峰面积, 以川芎嗪浓度 (X) 为横坐标,

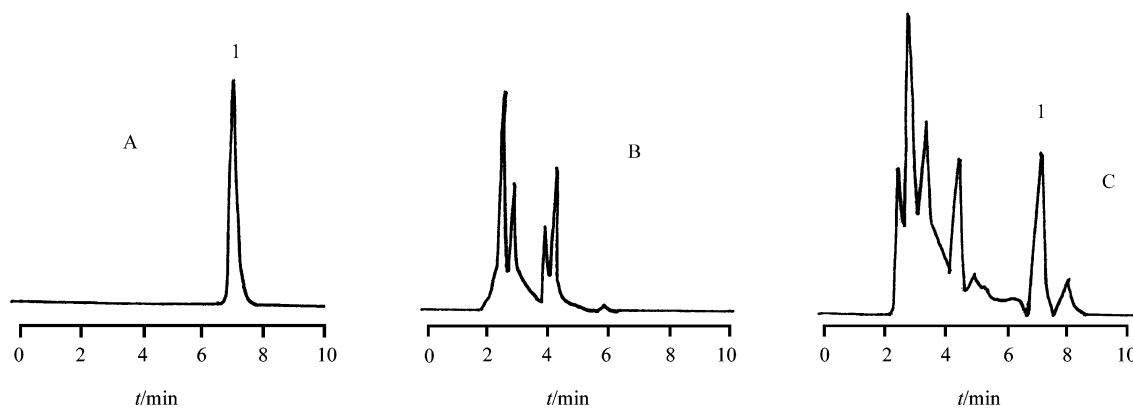


图 1 高效液相色谱图

A. 川芎嗪对照品; B. 缺川芎空白对照液; C. 样品; 1. 川芎嗪

峰面积 (Y) 为纵坐标, 得线性方程为: $Y = 59018.8X + 1964.8$, $r = 0.9996$, 线性范围是 $5 \sim 40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5 精密度试验 取同一份供试品溶液 $20 \mu\text{L}$, 重复进样 5 次, 结果峰面积的 RSD 为 0.6%。

2.6 稳定性试验 取同一批 (0212201) 样品适量, 制成供试品溶液, 分别于 0、1、2、4、8、24h 进样, 每次 $20 \mu\text{L}$, 记录峰面积, 结果川芎嗪含量的平均值为每 1 克含 3.38mg , RSD 为 0.7%。

2.7 重复性试验 取同批号 (0212201) 样品 5 份, 照样品测定方法测定, 计算每份样品中川芎嗪的含量, 分别为 3.29 、 3.36 、 3.38 、 3.42 、 $3.31 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 平均样品含量为 $3.35 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.6%。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的同批号 (0307201) 样品适量共 9 份约 0.25g (相当于川芎嗪约 0.80mg), 精密称定, 分别精密加入盐酸川芎嗪对照品储备液 ($0.4088 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1 、 2 、 3mL , 配制成低、中、高 3 种浓度系列, 每一种浓度配制 3 份, 按供试品溶液制备方法制备, 照样品含量测定方法操作, 每份进样 2 次, 以平均峰面积计算川芎嗪含量。计算平均回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率实验结果

样品编号	样品量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 ($\bar{x} \pm s$) %	RSD (%)
A ₁	0.7978	0.4088	1.2034	99.22	99.01 ± 1.16	1.2
A ₂	0.8016	0.4088	1.2003	97.53		
A ₃	0.7950	0.4088	1.1983	98.65		
B ₁	0.7972	0.8176	1.6254	101.30	99.01 ± 1.16	1.2
B ₂	0.7978	0.8176	1.6160	100.07		
B ₃	0.7965	0.8176	1.6056	98.96		
C ₁	0.7959	1.2264	1.9935	97.65	99.01 ± 1.16	1.2
C ₂	0.7946	1.2264	2.0101	99.11		
C ₃	0.7972	1.2264	2.0064	98.60		

2.9 干扰性实验 取当归药材粉碎, 过 80 目筛, 约 1.0g , 按供试品溶液制备方法配制一份缺川芎药材的空白对照液, 按样品测定方法进行色谱分析, 记录色谱图, 见图 1。结果表明, 空白对照液的成分在 6.5min 以前完全洗脱, 不干扰川芎嗪的测定。

2.10 样品含量测定 精密吸取对照品溶液 ($20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和供试品溶液各 $20 \mu\text{L}$ 进样, 记录峰面积, 按外标峰面积法计算样品中的川芎嗪含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 ($n = 3, \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

批号	含量测定值			含量平均值
0206201	2.82	2.75	2.80	2.79
0212201	3.37	3.32	3.40	3.36
0307201	3.18	3.21	3.12	3.17

3 讨论

3.1 本文曾试验用甲醇、乙醇、乙醇-异丙醇 (1:1)、80% 甲醇提取, 结果以甲醇和 80% 甲醇提取效果最好, 二者的提取率无显著性差异。选择 80% 甲醇为提取溶剂, 可减少溶剂挥发, 便于用微孔滤膜过滤样品液。将样品在 80% 甲醇中浸泡 24h 后超声提取, 结果与未浸泡样品无显著性差异。取同批号样品 3 份, 分别用 80% 甲醇提取 1、2、3 (每次 20mL) 次, 并比较了不同的超声提取时间 (15、25、35、45min) 对实验结果的影响, 结果表明, 每次超声 25min, 提取 2 次含量最高, 以后趋于稳定。所以本实验确定超声提取时间为 25min, 提取 2 次。

3.2 采用含冰醋酸或磷酸盐缓冲液的流动相^[3,4], 本文用甲醇-水为流动相获得满意的分离效果, 样品测定中川芎嗪的理论塔板数达到 5000。实验结果证明, 方法重复性好, 操作简便, 可用于复方川芎胶囊中川芎嗪的含量测定, 为制定该制剂的质量标准提供参考依据。

3.3 三批样品的川芎嗪含量,批号 0206201 与其他两批样品比较有较大差异,川芎嗪遇热易升华^[3],作为复方制剂中的主要有效成分,应制定质量标准,控制其质量,以保证制剂的质量稳定,保证临床疗效。

参考文献:

[1] 王万铁,林丽娜,徐正祈,川芎嗪对心脏换瓣患者血小板聚集功能的影响[J].中国中西医结合杂志,2000,20

(1):25.

- [2] 廖福龙,李斌,彭健,等.川芎嗪抗剪切应力诱导血小板聚集的实验研究[J].中国药理学通报,1997,13(1):47-50.
- [3] 张立昆,邹安庆,陈新旺.高效液相色谱法测定复方制剂中阿魏酸和川芎嗪[J].中草药,1996,27(4):213-214.
- [4] 蒋芝荣.“副鼻窦冲剂”中川芎嗪的 HPLC 法测定[J].中草药,1994,25(9):459-460.