

HPLC测定痔血胶囊中的苦参碱

庞国强, 姜华明, 陈学军, 罗厚华

(四川维奥制药有限公司, 四川 成都 611130)

摘要: 目的 采用 HPLC法测定痔血胶囊中苦参碱的含量。方法 采用 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH 6.8)-三乙胺 (18: 18: 70: 0.1), 流速 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长 215 nm。结果 苦参碱的标准曲线为: $Y = 1.898 \times 10^5 X + 2.036 \times 10^4$ ($r = 0.9999$) 在 0.392~1.960 μg 的线性关系良好。结论 所建方法简便、准确, 可用于制剂的质量控制。

关键词: 痔血胶囊; 高效液相色谱法; 苦参碱

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2008)05-0604-02

Determination of matrine in Zhixue capsules by HPLC

PANG Guo-qiang JIANG Hua-ming CHEN Xue-jun, LUO Hou-hua

(Sichuan VitaPharmaceutical Company Ltd., Chengdu 611130, China)

Abstract **OBJECTIVE** To develop an HPLC method for determination of matrine in Zhixue Capsules. **METHODS** The Zorbax SB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-phosphate salt buffer solution (pH 6.8) - triethylamine (18: 18: 70: 0.1). The flow rate was 1.0 ml·min⁻¹. The detection wavelength was at 215 nm. **RESULTS** There was a good linear relationship within the range of 0.392 - 1.960 μg and regression equation was $Y = 1.898 \times 10^5 X + 2.036 \times 10^4$ ($r = 0.9999$). **CONCLUSION** This method is simple and accurate, and it can be applied to the quality control of Zhixue capsule.

Key words Zhixue capsules; HPLC; Matrine

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2008)05-0604-02

痔血胶囊由苦参、白鲜皮两味中药组成, 属纯中药复方制剂, 于 2004 年 8 月获得国家发明专利证书 (专利号: ZL13266 6)。成品质量标准中把有效成分白鲜碱作为含量测定的指标性成分, 而苦参只作定性检测。为此, 查阅文献并比较多种含量测定方法后, 特采用 HPLC 测定了痔血胶囊中的有效成分苦参碱。其分离效果良好, 准确且灵敏度高。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV3000 紫外检测器 (日本岛津)。苦参碱对照品 (中国药品生物制品检定所); 其他试剂为分析纯或色谱纯; 水为重蒸水; 痔血胶囊 (四川维奥制药有限公司)。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH 6.8)-三乙胺 (18: 18: 70: 0.1), 流速 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长 215 nm, 进样量 5 μl; 柱温为 30℃。

1.2.2 溶液的制备 精密称取约 0.5 g 痔血胶囊样品粉末, 精密称定, 加 40 ml 水, 再加 2 ml 浓氨试液, 摇匀, 超声处理 30 min 后转移至分液漏斗中, 用氯仿提取 (20 ml × 3), 合并提取液, 过滤, 残渣及容器、滤器用少量氯仿洗涤, 过滤, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液作为供试品溶液。

精密称取 9.8 mg 苦参碱对照品, 置 50 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得 0.196 mg·ml⁻¹ 的对照品溶液。

按处方组成, 除不加苦参外, 其他药品按制备工艺要求制成不含苦参的样品, 依供试液溶液项下方法操作, 制得空白溶液。

1.2.3 线性范围的考察 分别吸取 2.468 10 μl 对照品溶液, 进样, 记录积分值, 以苦参碱对照品进样量为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为: $Y = 1.898 \times 10^5 X + 2.036 \times 10^4$ ($r = 0.9999$), 苦参碱 0.392~1.96 μg 与峰面积积分值的线性关系良好。

1.2.4 专属性试验 分别吸取 5 μl 对照品、供试

品、阴性对照溶液, 进样。供试品溶液中苦参碱达到基线分离, 阴性对照溶液无干扰, 基线稳定 (图 1)。

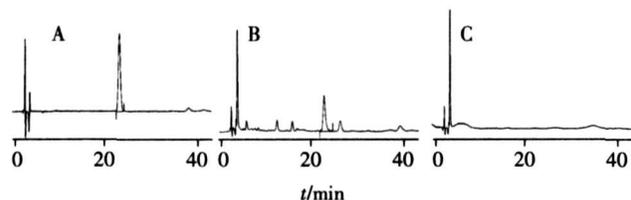


图 1 苦参碱对照品 (A)、样品 (B) 和阴性样品 (C) 溶液的色谱图
Fig 1 Chromatograms of matrine control solution (A), sample solution (B) and negative sample solution (C)

1.2.5 精密度试验 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 $5 \mu\text{l}$ 重复进样 5 次, 测定苦参碱的峰面积, 对照品峰面积的 $RSD = 0.57\%$, 供试品峰面积的 $RSD = 0.68\%$, 表明精密度良好。

1.2.6 稳定性试验 分别精密吸取 $5 \mu\text{l}$ 供试品溶液, 每隔 4 h 进样 1 次, 共 3 次, 测定苦参碱的峰面积。其 $RSD = 1.7\%$ 。试验结果表明, 供试品在 8 h 内稳定性良好。

1.2.7 重复性试验 对同一批供试品重复平行测定 5 次, 计算含量。 $RSD = 1.6\%$, 表明重复性良好。

1.2.8 加样回收率试验 分别取 0.5 g 已知苦参碱含量的痔血胶囊, 精密称定, 分别精密加入 0.8 、 1.0 、 1.2 ml 苦参碱对照品溶液各 2 份, 测定含量。平均回收率为 98.2% , $RSD = 2.7\%$ ($n = 6$)。

1.2.9 样品的测定 按“1.2.2”项供试品溶液的制备方法和“1.2.1”项测定方法, 分别对 6 批样品进行测定。结果苦参碱的含量分别为 9.24 、 9.02 、 9.17 、 8.21 、 8.43 、 8.08 mg g^{-1} 。

2 讨论

比较典型的苦参碱含量测定方法为薄层扫描法、GC 法和 HPLC 法^[1-6], 我们曾用双波长薄层扫描法测定痔血胶囊中苦参碱的含量, 操作烦琐, 外界

因素对测定结果影响较大, 特别是二次显色, 很难把握, 重复性差。而采用 GC 法测定, 内标物的出峰位置很难与被分析物质的出峰位置分开, 且前处理较复杂, 花时较长。

曾选用过甲醇-水-三乙胺 (50:50:0.04)、甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH 7.6)-三乙胺 (15:25:65:0.1)、甲醇-水-二乙胺 (55:45:0.1)^[1] 和乙腈-0.02% 三乙胺 (30:70), 均未达到良好的分离效果, 最后选用甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH 6.8)-三乙胺 (18:18:70:0.1)^[2], 分离效果良好。文中考察了样品的提取方法, 选择了不同超声处理时间、不同提取次数来进行比较, 发现超声处理 30 min (8.22 mg g^{-1}) 和超声处理 40 min (8.28 mg g^{-1}), 萃取 3 次 (8.56 mg g^{-1}) 和萃取 4 次 (8.57 mg g^{-1}) 的含量上无明显差异, 故选定超声处理 30 min 并萃取 3 次。

实验旨在对痔血胶囊复方制剂中主要有效成分苦参碱含量测定方法进行研究。含量测定方法学的考察结果显示, 文中方法操作简便、专属、准确, 具有良好的重复性。

参考文献:

- [1] 刘臣, 崔仁海, 崔玉海, 等. HPLC 法测定斯比特康注射液中的苦参碱的含量 [J]. 基层中药杂志, 1999, 13(1): 7-8
- [2] 王青虎, 包明兰, 高玉峰, 等. 气相色谱法测定查干一汤中苦参碱的含量 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2004, (69): 232-233
- [3] 黄老金, 黄小鸥. 薄层扫描法测定妇阴净中苦参碱的含量 [J]. 广西医学, 1997, 19(4): 545-546
- [4] 侯伟雄, 陈静君, 李思华. 气相色谱法测定妇炎平泡腾片中苦参碱的含量 [J]. 广东医学院学报, 2005, 23(3): 324-325
- [5] 曾令高. HPLC 测定苦参碱葡萄糖注射液中苦参碱的含量及有关物质 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19(4): 290-291
- [6] 原永芳, 潘勇华, 胡晋红, 等. HPLC 测定肝力注射液中苦参碱和盐酸川芎嗪的含量 [J]. 华西药理学杂志, 2003, 18(5): 367-369

收稿日期: 2007-09

《儿科药理学杂志》2009 年征订启事

《儿科药理学杂志》是重庆医科大学儿童医院与中国药学会医院药理学儿科药理学专业组联合主办, 是目前我国儿科药理学领域唯一的专业学术刊物。ISSN 1672-108X, CN 50-1156/R。本刊是儿科学类核心期刊, 中国核心期刊 (遴选) 数据库、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊, 中国学术期刊 (光盘版) 和中国期刊网、万方数据-数字化期刊群、中文科技期刊数据库、中文生物医学文摘文献库 (CMCC) 等全文收载。

主要内容有: 儿科药理学的基础与临床、儿科中西药制剂、儿科中西医临床用药、药物分析、儿科临床药理学、药事管理、新药评价、儿科安全用药与不良反应、儿科药理学基础知识与理论、最新研究成果、先进技术介绍等。本刊为双月刊, 64 页, 双月 10 日出版。每册定价 6.00 元。邮发代号: 78-133, 也可直接向编辑部订购。本刊尚有 2001-2007 年全套期刊, 欢迎补购。编辑部地址: 重庆市渝中区中山二路 136 号重庆医科大学儿童医院内《儿科药理学杂志》编辑部 (400014), 电话: (023) 6362877 (Fax), E-mail: ymjl2003@163.com