

离子对高效液相色谱法测定 春血安胶囊中盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量

吕曙华,徐刚,吕归宝,寿国香*
(天津市药品检验所,天津 300070)

春血安胶囊为中药复方制剂,由熟地、三七、柴胡、牛膝、茯苓、黄连等 13 味中药组成,具有益肾固精、调经止血之功效,用于因肝肾不足、冲任失调所致的月经过多、经期腹痛、青春期功能失调性子宫出血等症。处方中黄连具有防止药物过于温燥,取其清热凉血之意,诸药合用,共达温肾调经、止血固冲的作用。本实验采用离子对高效液相色谱法测定黄连中小檗碱和巴马汀含量,建立春血安胶囊的含量测定方法。

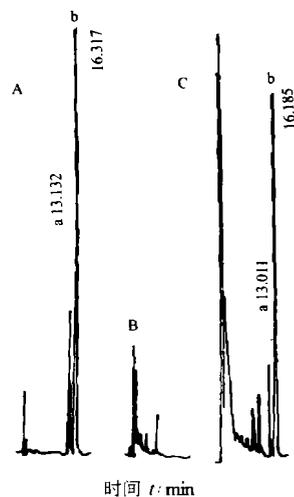
1 仪器与试剂

岛津 10A 高效液相色谱仪, LC-10AD 泵, SPD-10AV 紫外检测器, C-R7A 数据处理机。盐酸巴马汀对照品(批号: 0732-9604, 经归一化法计算, 含量为 98.83%, 可作为供含量测定用对照品)和盐酸小檗碱对照品(批号: 0713-9605, 供含量测定用)购自中国药品生物制品检定所。所用试剂均为分析纯。水为重蒸水。春血安胶囊及空白样品由天津第五中药厂提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Turner-C₁₈ (250 mm× 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠 (42: 58, 每 1 000 mL 混合液中加入十二烷基磺酸钠 1.7 g); 柱温: 40℃; 检测波长: 345 nm。理论板数按盐酸巴马汀计为 6 000, 按盐酸小檗碱计为 7 000, 两者分离度为 1.64, 符合要求。拖尾因子: 盐酸巴马汀为 1.00, 盐酸小檗碱为 1.03, 符合要求。色谱图见图 1。

2.2 标准曲线的制备: 精密称取盐酸巴马汀对照品 7.6 mg 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用; 精密称取盐酸小檗碱对照品 10.1 mg 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用; 精密吸取上述盐酸巴马汀溶液 3 mL 和盐酸小檗碱溶液 10 mL, 置同一 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5, 10, 15 μL 注入液



a-盐酸巴马汀 b-盐酸小檗碱

a-palmatine hydrochloride b-berberine hydrochloride

图 1 对照品 (A)、空白对照 (B) 和供试品 (C) 的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of references substances (A), blank (B) and sample (C)

相色谱仪; 另精密吸取上述盐酸巴马汀溶液 3 mL 和盐酸小檗碱溶液 10 mL, 置同一 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10, 15 μL 注入液相色谱仪。分别以盐酸巴马汀与盐酸小檗碱的进样量为横坐标, 以各自的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明, 盐酸巴马汀在 0.023~0.137 μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程 $Y = 1.925\ 934\ 685X - 2.397\ 594$, $r = 0.999\ 9$; 盐酸小檗碱在 0.101~0.606 μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 1.861\ 086\ 567X - 7.292\ 378$, $r = 0.999\ 9$ 。

2.3 专属性考察: 按处方比例及生产方法, 按供试品溶液的制备方法制备缺黄连的空白对照溶液, 经对空白对照溶液与盐酸巴马汀及盐酸小檗碱对照溶液测定结果比较, 空白对照溶液在与盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对照品相应保留时间的位置上无吸收峰, 结果表明, 样品中其他组分对盐酸巴马汀及盐酸小

碱测定无干扰

2.4 供试品溶液的制备: 取本品内容物 (批号 000702), 研细, 取 1 g 精密称定, 置索氏提取器中, 加入甲醇-稀盐酸 (100: 1) 50 mL, 加热回流至无色, 移至 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得

2.5 精密度试验: 取供试品溶液 10 mL, 重复连续进样 5 次, 测得盐酸巴马汀峰面积的 $RSD=0.80\%$, 盐酸小檗碱峰面积的 $RSD=1.33\%$ 。

2.6 稳定性试验: 将一份供试品溶液室温放置 0, 2, 3, 17, 18 h 后分别进样, 测得盐酸巴马汀峰面积的 $RSD=1.91\%$; 盐酸小檗碱峰面积的 $RSD=1.61\%$, 表明本品在 18 h 内测定结果稳定

2.7 重现性试验: 对同一批号样品 (批号为 000702) 分别称取 5 份, 按照供试品溶液制备方法操作, 测定, 分别计算含量。盐酸巴马汀平均含量为 0.6625 mg/g , $RSD=1.63\%$, 盐酸小檗碱平均含量为 2.9973 mg/g , $RSD=1.27\%$, 表明重现性符合要求

2.8 回收率试验: 取已知含量的本品 (批号为 000702) 内容物, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 共 6 份, 其中 3 份精密加入盐酸巴马汀对照品溶液 (0.152 mg/mL) 2 mL, 盐酸小檗碱对照品溶液 (0.126 mg/mL) 10 mL; 其余 3 份中精密加入盐酸巴马汀对照品溶液 (0.152 mg/mL) 3 mL, 盐酸小檗碱对照品溶液 (0.126 mg/mL) 15 mL, 于 6 份样品中分别加入甲醇-稀盐酸 (100: 1) 50 mL, 再按照上述供试品溶液制备方法操作, 测定。盐酸巴马汀平均回收率为 98.86% , $RSD=1.46\%$ ($n=6$); 盐酸小檗碱平均回收率为 99.98% , $RSD=1.34\%$ ($n=6$)。

2.9 供试品的测定结果: 采用上述方法测定了 10 批春血安胶囊样品, 结果见表 1

3 讨论

3.1 春血安胶囊处方中有熟地、三七、柴胡、牛膝、茯苓、黄连等, 其中君药为熟地、三七。最初试验是以三七中三七皂苷 R_1 为指标, 建立春血安胶囊的含量测定方法, 由于三七皂苷 R_1 吸收波长在 200 nm 左右, 吸收波长较低, 处方中其他成分干扰较大, 故选用该处方中黄连为测定对象, 建立春血安胶囊的含量测定方法

表 1 春血安胶囊中盐酸巴马汀与盐酸小檗碱含量测定结果

Table 1 Results of content of palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride in Chunxuean Capsule

批号	盐酸巴马汀 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	盐酸小檗碱 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	盐酸巴马汀与盐酸 小檗碱含量之比
970101	0.682 0	2.705 6	0.25
970404	0.662 5	3.008 1	0.22
980101	0.765 4	3.201 0	0.24
980302	0.584 4	2.471 0	0.24
990101	0.588 2	2.226 0	0.26
990302	0.570 5	2.420 4	0.24
990702	0.699 6	2.602 8	0.27
000301	0.446 6	2.012 4	0.22
000401	0.442 1	1.986 0	0.22
000702	0.662 5	3.008 1	0.22

3.2 从中药制剂中提取、分离盐酸小檗碱的方法很多, 多数是根据盐酸小檗碱的结构, 在提取溶剂中加入一定量酸, 使巴马汀与小檗碱以盐的形式溶于极性溶剂中。文献报道, 提取溶剂有甲醇-盐酸 (100: 1)^[1]、甲醇-稀盐酸 (100: 1)^[2], 由于盐酸对色谱柱、仪器及注射器等均有一定影响, 因此选用甲醇-稀盐酸 (100: 1) 为提取溶剂。采用索氏提取、超声处理及回流提取方法, 结果索氏提取法提取完全。由于盐酸巴马汀与盐酸小檗碱在甲醇溶液中为黄色, 提取至甲醇无色时, 则表示盐酸巴马汀与盐酸小檗碱已被提取完全, 易于观察。

3.3 黄连中含多种生物碱, 包括小檗碱 (berberine)、黄连碱 (coptisine)、巴马汀 (棕榈碱, palmatine)、药根碱 (jatrorrhizine)、甲基黄连碱 (worenine)、木兰花碱 (magnoflorine) 等^[1]。因盐酸巴马汀与盐酸小檗碱对照品易得, 故在制定标准时选用

3.4 根据文献报道^[3], $UV \lambda^{B0H} \text{ nm} (\log \epsilon)$: 小檗碱 331 (3.88)、巴马汀 347 (4.44) 处有最大吸收, 巴马汀吸收强度高于小檗碱, 而小檗碱的含量高于巴马汀, 参照日本药局方第 13 改正版黄连检测方法, 因此, 检测波长设定为 345 nm

References

[1] Wang M Z. *The Commonly-used HPLC Analysis for Chinese Traditional and Herbal Drugs* (常用中草药高效液相色谱) [M]. Beijing: Science Press, 1999.
 [2] The Health Ministry of Japan. *The Pharmacopoeia of Japan* [M]. 13th ed. Tokyo: Hirukawa Book Shop, 1996.
 [3] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicines* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅