

HPLC 法测定复方石韦片中苦参碱和氧化苦参碱的含量

苏静州¹, 刘明言¹, 董海荣²

(1. 天津大学化工学院, 天津 300721; 2. 承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000)

复方石韦片是由石韦、苦参等药味组方制成的纯中药制剂, 具有清热消炎、燥湿利尿之功效, 临床上用于泌尿系感染, 急慢性肾小球肾炎、肾盂肾炎、膀胱炎、尿道炎等。苦参为其主药, 苦参碱和氧化苦参碱是苦参中主要药效成分, 均具有抗炎、抗肿瘤、杀菌等作用, 氧化苦参碱还具有镇静、抗免疫作用。为控制该药品内在质量, 本实验采用 HPLC 法测定复方石韦片中苦参碱、氧化苦参碱的含量。该方法处理简单、快速、结果稳定。

1 仪器、试剂和药品

Beckman—334 型高效液相色谱仪, 中性氧化铝(100~200 目), 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。苦参碱对照品、氧化苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 805-200005, 0780-20004, 供含量测定用), 复方石韦片(承德颈复康药业集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Inertsil ODS-3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 带有前置保护柱; 流动相: 乙腈-0.025 mol/L 磷酸(4:96, 用三乙胺调 pH 至 3); 体积流量 1 mL/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 室温。理论塔板数以苦参碱计算不低于 6 000。此条件下经苦参空白对照试验, 证明除苦参外其他药材不干扰苦参的测定, 并且苦参碱、氧化苦参碱与其他组分均能达到基线分离, 色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 分别取苦参碱和氧化苦参碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 分别配成含苦参碱 0.108 mg/mL 及氧化苦参碱 0.08 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 精密称取约 0.6 g (约相当于 2 片的质量) 置 100 mL 磨口具塞三角瓶中, 准确加入氯仿 40 mL 及氨水 0.5 mL, 密塞浸泡过夜, 棉花滤过, 弃去初滤液, 收集续滤液。精密吸取 10 mL 滤液, 通过中性氧化铝柱(12 cm×1 cm, 内装 5 cm 高

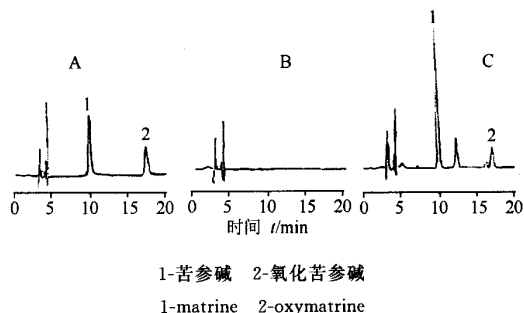


图1 对照品溶液(A)、阴性对照(B)和复方石韦片(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference Substances (A), negative sample (B), and Compound Shiwei Tablet (C)

中性氧化铝), 用 15 mL 氯仿洗脱, 继续用 15 mL 氯仿-甲醇(7:3)洗脱, 合并洗脱液, 挥去溶剂, 残渣用甲醇溶解并定容至 5 mL, 摇匀, 用 0.5 μm 微孔滤膜滤过, 即得。同法制备缺石韦的阴性对照溶液。

2.3 线性关系的考察: 准确吸取对照品溶液 2、4、6、8、10 μL 注入液相色谱仪, 按色谱条件测定峰面积积分值。以进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 得线性回归方程。苦参碱的方程为 $Y = 9.262 \times 10^5 + 5.47 \times 10^3$, $r = 0.9999$; 氧化苦参碱的方程为 $Y = 6.859 \times 10^5 X + 1.88 \times 10^3$, $r = 0.9998$ 。表明苦参碱在 0.216~1.08 μg, 氧化苦参碱在 0.16~0.80 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液 6 μL, 连续进样 5 次, 测定峰面积。结果苦参碱、氧化苦参碱峰面积积分值的 RSD 分别为 1.12%、2.15%。

2.5 稳定性试验: 取同一供试品溶液分别为 0、2、4、6、8、12 h 进样 5 μL, 测定苦参碱、氧化苦参碱的峰面积, 结果其 RSD 分别为 0.81%、0.95%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 重现性试验: 同一批样品, 按供试品溶液的制备方法平行制备 5 份, 依法测定, 计算, 结果苦参碱、氧化苦参碱质量分数的 RSD 分别为 1.24%、1.40%。

2.7 回收率试验: 精密称取含苦参碱 7.812 mg/g、

氧化苦参碱 1.630 mg/g 复方石韦片粉末共 6 份,每份约 0.3 g,分别精密加入苦参碱对照品 2.40 mg、氧化苦参碱对照品 0.50 mg,依供试品溶液的制备方法处理,按上述色谱条件进行 HPLC 分析,测定,计算回收率。结果苦参碱的平均回收率为 99.87%,RSD 为 1.15%;氧化苦参碱的平均回收率为 100.67%,RSD 为 0.98%。

2.8 样品测定:取不同批号的复方石韦片制备供试品溶液,准确吸取对照品溶液 4、8 μ L,供试品溶液 5 μ L,注入液相色谱仪测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 曾采用稀醇浸提、氨水碱化、氯仿萃取处理样品,并与本试验样品处理方法比较,测定方法一致,但处理较繁琐。本实验采用氧化铝柱色谱法进行净

表 1 复方石韦片中苦参碱和氧化苦参碱的测定 ($n=3$)

Table 1 Content of matrine and oxymatrine in Compound Shiwei Tablet ($n=3$)

批号	苦参碱/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	氧化苦参碱/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
021001	7.323	1.444
030102	7.876	1.445
030308	6.810	1.295

化样品,操作简便,纯化效果良好。

3.2 流动相曾采用甲醇、四氢呋喃与磷酸溶液的不同配比的流动相系统分离样品,效果均不理想,后改为乙腈-0.025 mol/L 磷酸溶液(4:96)的流动相系统,苦参碱、氧化苦参碱均能达到与杂质良好分离,乙腈的比例及流动相的 pH 值变化均能明显改变样品分离情况,适当增加乙腈比例,降低流动相 pH 值能改善峰形,有利于准确定量。

HPLC 法测定冠心苏合丸和冠心苏合胶囊中桂皮酸的含量

王 睿,陈晓辉,于治国,毕开顺
(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

冠心苏合丸和冠心苏合胶囊是由宋代《和济局方》苏合香丸简化而成,由苏合香、冰片、乳香、檀香、青木香 5 味药材组成。其中冠心苏合丸收载于《中华人民共和国药典》2000 年版一部。具有理气宽胸、散瘀化浊、通窍止痛的功效,临床上主要用于心绞痛、胸闷等症。主要有效成分为桂皮酸和冰片。目前,关于药材及其制剂中桂皮酸的含量测定已有一些报道^[1,2],但对于冠心苏合丸和冠心苏合胶囊中桂皮酸的含量测定未见报道。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AD 高效液相色谱仪,SPD-10A 紫外检测器,CKChrom™ 色谱工作站;桂皮酸对照品(中国药品生物制品检定所),冠心苏合丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂),冠心苏合胶囊(天津同仁堂制药厂);甲醇、乙腈均为色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为二次重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μ m)(大连中汇达科学仪器公司);流动相:甲醇-乙腈-水-冰醋酸(10:22:55:0.5);检测波长:270 nm;体积流量:0.8 mL/min;柱温:室温;

进样量:20 μ L。色谱图见图 1。

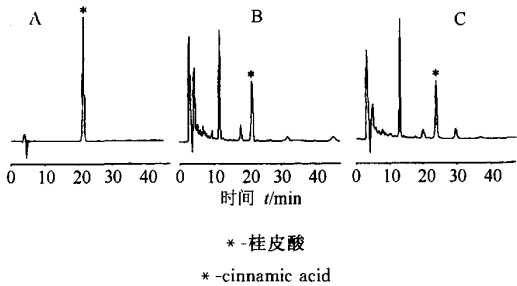


图 1 桂皮酸对照品(A)、冠心苏合丸(B)和冠心苏合胶囊(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of cinnamic acid (A), Guanxin Suhe Pill (B), and Guanxin Suhe Capsule (C)

2.2 对照品溶液的制备:取桂皮酸对照品约 10 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 冠心苏合丸供试品溶液的制备:取冠心苏合丸适量,精密称定,置研钵中,精密加入硅藻土适量(约为样品质量的 1~2 倍,以能均匀分散为度),研