

## HPLC 法测定鼻咽灵片中苦参碱

王 蔚\*

(广州中一药业有限公司,广东 广州 510530)

**摘要:**目的 建立用 HPLC 法测定鼻咽灵片中苦参碱的方法。方法 色谱柱为 Alltech C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.025 mol/L 硫酸铵溶液(加入十二烷基硫酸钠 9.2 g, 0.05 mol/L 硫酸溶液 1 mL)(40:60);检测波长为 205 nm;体积流量为 1.0 mL/min;柱温为 25 °C;进样量为 5 μL。结果 苦参碱测定的线性范围为 0.165~0.990 μg, 回归方程为  $Y = 1871.03542X - 9.3158548$ ,  $r = 0.99996$ , 平均回收率为 97.10%, RSD 为 1.8%。结论 该法结果准确, 操作简单, 重现性好, 可作为鼻咽灵片质量控制的方法。

**关键词:**鼻咽灵片;苦参碱;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)07-1084-02

鼻咽灵片由山豆根、半枝莲等 10 味药材制成, 具有清热解毒, 软坚散结, 益气养阴的作用, 用于胸膈风热, 痰火郁结, 热毒上攻, 耗气伤津之证。山豆根为其君药, 主要含苦参碱与氧化苦参碱等生物碱类成分, 但氧化苦参碱不稳定<sup>[1]</sup>。在本品的制备过程中, 由于加热以及处方中其他药味的影响, 几乎测不到氧化苦参碱, 故本实验以苦参碱作为质量标准评价指标, 建立鼻咽灵片中苦参碱的高效液相色谱测定方法。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(DAD 检测器, 自动进样器), 华南超声波清洗器(功率 250 W, 频率 45 Hz)。

苦参碱对照品(批号 805-9804, 中国药品生物制品检定所), 乙腈(Merck, 色谱纯), 其他试剂均为分析纯。鼻咽灵片由广州中一药业有限公司生产。

## 2 方法与结果

2.1 检测波长的选择: 用 DAD 检测器检测得苦参碱光谱图, 结果为末端吸收, 参考文献报道<sup>[2]</sup>, 故选择 205 nm 为测定波长。

2.2 色谱条件: 色谱柱为 Alltech C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.025 mol/L 硫酸铵溶液(加入十二烷基硫酸钠 9.2 g, 0.05 mol/L 硫酸溶液 1 mL)(40:60);检测波长为 205 nm;体积流量为 1.0 mL/min;柱温为 25 °C;进样量为 5 μL。理论板数按苦参碱峰计算应不低于 5 000。色谱图见图 1。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定, 计算平均片质量, 研细, 取约 0.5 g, 精密

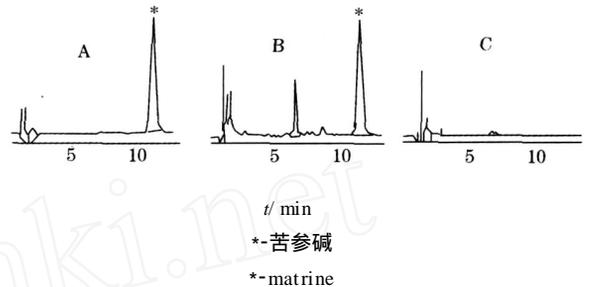


图 1 苦参碱对照品(A)、鼻咽灵片(B)和阴性样品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of matrine reference substance (A), Bianying Tablets (B), and negative sample (C)

称定, 置 50 mL 量瓶中, 加浓氨溶液-甲醇(1:1)溶液 1 mL 润湿, 放置 30 min, 加氯仿-甲醇(7:3)溶液约 35 mL, 超声提取 30 min, 放冷, 加氯仿-甲醇(7:3)溶液至刻度, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 过中性氧化铝柱(100~200 目, 8 g, 直径 1.5 cm), 收集过柱溶液, 再用 25 mL 氯仿-甲醇(7:3)溶液洗脱, 收集洗脱液, 合并过柱溶液与洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 移至 20 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。取缺山豆根的阴性样品 0.5 g, 同法制成阴性对照溶液。

2.4 线性关系考察: 取苦参碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 66 μg/mL 溶液。精密吸取苦参碱对照品溶液 2.5、5、7.5、10、12.5、15 μL 注入液相色谱仪中, 测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得标准曲线, 拟合回归方程为  $Y = 1871.03542X - 9.3158548$ ,  $r = 0.99996$ , 表明苦参碱在 0.165~0.990 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

\* 收稿日期: 2008-12-08

作者简介: 王 蔚 E-mail: fzf03@yahoo.com.cn

2.5 精密度试验:取同一供试品溶液(批号 E00053)重复进样 6 次,每次 5 μL,分别测定苦参碱峰面积,结果其 RSD 为 0.8%。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液(批号 E00053),分别于 0、2、4、8、16、24 h 测定苦参碱峰面积,结果 RSD 为 1.6%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 重现性试验:取批号 E00053 鼻咽灵片样品 6 份,制备供试品溶液,进样测定,结果苦参碱平均质量分数为 6.24 mg/g, RSD 为 1.8%。

2.8 加样回收率试验:取批号: E00053 样品 5 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别加入 1.70 mg 苦参碱对照品,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果平均回收率为 97.1%, RSD 为 1.8%。

2.9 样品测定:取 3 批鼻咽灵片样品,制备供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液和苦参碱对照品溶液各 5 μL,进样,记录色谱图,测定峰面积,计算,结果见表 1。

### 3 讨论

3.1 提取方法的考察:本品细粉加浓氨溶液润湿后,再加三氯甲烷超声提取,由于其中含糖类成分较多,

表 1 鼻咽灵片中苦参碱的测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of matrine in Bianling Tablets (n=2)

批号	苦参碱/(mg·g <sup>-1</sup> )
E00053	6.24
E00054	6.17
E00055	6.25

易粘结成团块状,考虑到可能会提取不完全,经过对无水乙醇-浓氨溶液(3:2)、浓氨溶液润湿后加入硅藻土、浓氨溶液-甲醇(1:1)润湿方法的比较,最后选定浓氨溶液-甲醇(1:1)润湿后,再加氯仿超声,结果本品细粉经过提取后仍维持原状,效果较好。

3.2 色谱条件的考察:乙腈-0.025 mol/L 硫酸铵溶液(加入十二烷基硫酸钠 0.6 g,用硫酸溶液(1:5)调节 pH 2.7)(35:65)为流动相<sup>[2]</sup>,氧化苦参碱与苦参碱峰不能达到基线分离,通过增加十二烷基硫酸钠的量,二者有理想的分离度;考虑用酸溶液调节 pH 值,给操作造成麻烦,经过对不同 pH 值的试验,最后选定本实验中采用的流动相。

#### 参考文献:

- [1] 崔健,耿惠,刘淑杰,等.山豆根在复方中化学成分变化的研究[J].中草药,2001,32(7):613-614.
- [2] 中华人民共和国卫生部药品标准[S].中药成方制剂第 18 册.1998.

## 《中草药》杂志列中文核心期刊中国医学类第一位

### 中国医学类核心期刊表

序号	刊名	序号	刊名
1	中草药	11	针刺研究
2	中国中药杂志	12	中药新药与临床药理
3	中国中西医结合杂志	13	南京中医药大学学报
4	中国针灸	14	中国实验药理学杂志
5	中成药	15	辽宁中医杂志
6	北京中医药大学学报	16	时珍国医国药
7	中药材	17	中医杂志
8	中国中医基础医学杂志	18	新中医
9	中药药理与临床	19	中国中西医结合急救杂志
10	中华中医药杂志	20	中国天然药物

摘自《中文核心期刊要目总览》2008 年版(第五版)