

# HPLC 同时测定四磨汤口服液中辛弗林、 槟榔碱和去甲异波尔定的含量

杨华<sup>1</sup>, 易小兰<sup>1</sup>, 谢金华<sup>1</sup>, 张飞飞<sup>1</sup>, 郭元满<sup>1</sup>, 胡高云<sup>2\*</sup>

(1. 湖南汉森医药研究有限公司, 长沙 410013; 2. 中南大学, 长沙 410013)

**[摘要]** 目的: 建立同时测定四磨汤口服液中辛弗林、槟榔碱和去甲异波尔定含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱 Agilent SCX (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.2% 磷酸 (2 ~ 1 000 mL 水, 氨水调 pH 3.8) (65:35), 检测波长 215 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C。结果: 辛弗林在 0.05 ~ 2.55 μg 线性良好 ( $r=0.9999$ ), 槟榔碱在 0.13 ~ 2.59 μg 线性良好 ( $r=0.9998$ ), 去甲异波尔定在 0.04 ~ 2.01 μg 线性良好 ( $r=0.9999$ )。辛弗林、槟榔碱和去甲异波尔定平均加样回收率分别为 99.8%, 100.6%, 100.61%。结论: 该方法简便、准确、可靠, 对四磨汤口服液质量标准提高具有一定参考价值。

**[关键词]** 高效液相色谱; 四磨汤口服液; 辛弗林; 去甲异波尔定; 槟榔碱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0079-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013220079

## Determination of Synephrine, Norisoboldine and Arecoline in Simo Tang Oral Liquid by HPLC

YANG Hua<sup>1</sup>, YI Xiao-lan<sup>1</sup>, XIE Jing-hua<sup>1</sup>, ZHANG Fei-fei<sup>1</sup>, GUO Yuan-man<sup>1</sup>, HU Gao-yun<sup>2\*</sup>

(1. Hunan Hansen Medical Research Co., Ltd, Changsha 410013, China;

2. Central South University, Changsha 410013, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a determination method of synephrine, norisoboldine and arecoline in Simo Tang oral liquid by HPLC. **Method:** HPLC method was set up, column was Agilent SCX, the mobile phase was methanol-0.2% phosphate solution, with the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; the detection wavelength was set at 215 nm, column temperature was kept at 35 °C. **Result:** Synephrine was linear within the range of 0.05-2.55 μg ( $r=0.9999$ ); the average recovery was 99.8%. Norisoboldine was linear within the range of 0.04-2.01 μg ( $r=0.9999$ ); the average recovery was 100.61%. Arecoline was linear within the range of 0.13-2.59 μg ( $r=0.9998$ ); the average recovery was 100.6%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and stable, which is valuable to improve the quality standard of Simo Tang oral liquid.

**[Key words]** HPLC; Simo Tang oral liquid; synephrine; norisoboldine; arecoline

四磨汤成方收录于明代《痘疹金镜录》,由木

香、枳壳、乌药、槟榔组成,在江南民间广泛用于婴幼儿乳食内滞。四磨汤口服液既能促进胃排空,又对胃肠运动有双向调节作用,具有顺气降逆、消积止痛之功效,用于婴幼儿乳食内滞证,症见腹胀、腹痛、啼哭不安、厌食纳差、腹泻或便秘;中老年气滞、食积症,症见脘腹胀满、腹痛、便秘;以及腹部手术后促进肠胃功能的恢复<sup>[1]</sup>。也有文献报道四磨汤口服液在治疗新生儿黄疸、胃食管返流、病毒性肠炎、便秘型肠易激综合征、中毒性肠麻痹等疾病的成功病例<sup>[2-8]</sup>。文献报道槟榔碱对胃肠道平滑肌活动有兴

**[收稿日期]** 20130503(005)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划项目 (2009CB523002); 国家“十二五”重大新药创制专项项目 (2011ZX09201-201-08)

**[第一作者]** 杨华, 工程师, 硕士, 从事中药新药开发研究, Tel: 0731-89793210, E-mail: yanghua1694@126.com

**[通讯作者]** \* 胡高云, 副教授, 从事创新药物开发研究, Tel: 0731-82650371, E-mail: hugaoyun@yahoo.com.cn

奋作用,通过兴奋 M 受体引起结肠平滑肌细胞收缩,其收缩作用通过细胞外  $Ca^{2+}$  的内流介导<sup>[8]</sup>。试验表明,氢溴酸槟榔碱对家兔十二指肠、空肠、回肠以及对豚鼠胃底肌条、胃体肌条、幽门环形肌自发运动作用相同,均有增强收缩振幅、提高张力的作用,张力随剂量增加而增大<sup>[9]</sup>。辛弗林能加快正常小鼠的小肠推进功能,能显著拮抗肾上腺素所致的胃排空、小肠推进抑制作用,其促胃肠运动作用可能与肾上腺素能系统有关<sup>[10]</sup>;辛弗林能显著抑制家兔离体十二指肠的自发活动,使收缩力降低,紧张性下降,且呈量效反应关系。能显著拮抗  $BaCl_2$ 、5-HT 引起的小肠(空肠和回肠)收缩加强,并拮抗肾上腺素(Adr)、多巴胺(Da)引起的小肠(空肠和回肠)收缩抑制<sup>[11]</sup>。槟榔碱和辛弗林为主要有效成分之一,而去甲异波尔多定也已被 2010 年版《中国药典》乌药药材标准纳入含量测定项<sup>[12]</sup>。四磨汤口服液现有标准仅对柚皮苷进行含量测定,故本文采用 HPLC 同时测定四磨汤口服液中辛弗林、槟榔碱和去甲异波尔多定的含量,以进一步提高四磨汤产品质量控制水平。

## 1 材料

美国安捷伦公司 1260 型液相色谱仪(美国安捷伦公司),KQ-250DB 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),METTLER 200 型电子天平,BP211D 型电子分析天平(Sartorius CO.),DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

氢溴酸槟榔碱对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 111684-200401),辛弗林对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 110727-200306),去甲异波尔多定对照品(上海中药标准化研究中心提供,批号 01-2069),甲醇为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。四磨汤口服液(湖南汉森制药股份有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Agilent SCX 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.2% 磷酸(2 ~ 1 000 mL 水,氨水调 pH 3.8)(65:35)洗脱,检测波长 215 nm,柱温 35 °C,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

### 2.2 溶液的制备

#### 2.2.1 对照品溶液的配制

取氢溴酸槟榔碱适量,加水溶解,另分别取辛弗林和去甲异波尔多定适量,加甲醇溶解,分别制成每 1 mL 含氢溴酸槟榔碱、辛弗林和去甲异波尔多定各 0.518, 0.510, 0.403 2 mg 的

溶液,作为对照品贮备溶液。分别取对照品贮备溶液,加甲醇稀释成每 1 mL 含辛弗林 25 μg、去甲异波尔多定 40 μg、氢溴酸槟榔碱 50 μg 的溶液,即得。

#### 2.2.2 供试品溶液的制备

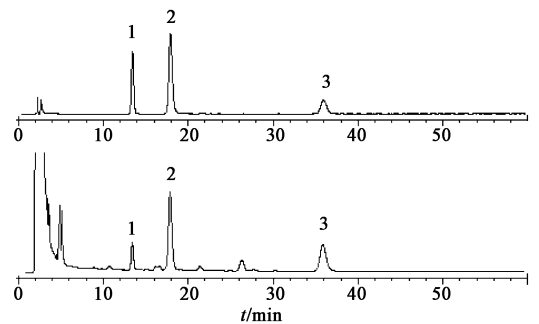
取本品 5 支,混匀,过 0.45 μm 的滤膜,取续滤液,即得。

### 2.3 线性关系的考察

取 0.518 g·L<sup>-1</sup> 氢溴酸槟榔碱对照品贮备溶液适量,加甲醇分别稀释成 259, 155.4, 51.8, 25.9, 13.0 mg·L<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL, 绘制标准曲线, 计算回归方程。柚皮苷在 0.13~2.59 μg 线性良好,  $Y = 46.596X - 1.1886 (r = 0.9998)$ 。

取 0.510 g·L<sup>-1</sup> 辛弗林对照品贮备溶液适量,加甲醇分别稀释成 255.0, 153.0, 102.0, 51.0, 25.5, 5.1 mg·L<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL, 绘制标准曲线, 计算回归方程。柚皮苷在 0.05~2.55 μg 线性良好,  $Y = 18.027X + 12.397 (r = 0.9999)$ 。

取 0.403 2 g·L<sup>-1</sup> 去甲异波尔多定对照品贮备溶液适量,加甲醇分别稀释成 201.6, 120.96, 80.64, 40.32, 20.16, 4.03 mg·L<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL, 绘制标准曲线, 计算回归方程。柚皮苷在 0.04~2.01 μg 线性良好,  $Y = 20.543X + 10.225 (r = 0.9999)$ 。



A. 对照品; B. 样品; 1. 辛弗林; 2. 去甲异波尔多定; 3. 槟榔碱

图 1 四磨汤 HPLC

### 2.4 精密度试验

选中间浓度的对照品溶液(氢溴酸槟榔碱 25.9 mg·L<sup>-1</sup>、辛弗林 25.5 mg·L<sup>-1</sup>、去甲异波尔多定 40.32 mg·L<sup>-1</sup>),在上述色谱条件下连续进样 6 次,记录色谱峰面积,氢溴酸槟榔碱、辛弗林、去甲异波尔多定 RSD 分别为 0.81%, 1.38%, 1.27%。

### 2.5 重复性试验

取本品按供试品溶液方法制备 6 份,按上述色谱条件检测,槟榔碱、辛弗林、去甲异波尔多定峰面积 RSD 在 0.93% ~ 1.52%,说明方法的重复性良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,按供试品溶液方法制备,按上述色谱条件分别在 0, 4, 8, 16, 24, 48 h 进行检测,进行稳定性考察。结果槟榔碱、辛弗林、去甲异波尔多定峰面积 RSD 0.24% ~ 1.95%,

表明样品在 48 h 内稳定。

**2.7 回收率试验** 取已知含量的样品溶液 10 mL, 分别加入对照品适量,按 2.2.2 方法处理,平行 6 次试验,测定结果见表 1。

表 1 四磨汤口服液中 3 种成分加样回收率试验 (n = 6)

成分	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
槟榔碱	0.226	0.222	0.452	101.8	100.6	0.97
	0.219	0.222	0.442	100.45		
	0.228	0.222	0.453	101.35		
	0.224	0.222	0.448	100.9		
	0.217	0.222	0.439	100		
	0.231	0.222	0.451	99.1		
辛弗林	0.342	0.33	0.667	98.48	99.8	1.65
	0.351	0.33	0.675	98.18		
	0.348	0.33	0.677	99.7		
	0.346	0.33	0.682	101.82		
	0.359	0.33	0.695	101.82		
	0.357	0.33	0.683	98.79		
去甲异波尔定	0.412	0.41	0.817	98.78	100.6	1.17
	0.423	0.41	0.832	99.76		
	0.408	0.41	0.823	101.22		
	0.417	0.41	0.835	101.95		
	0.435	0.41	0.851	101.46		
	0.401	0.41	0.813	100.49		

**2.8 样品测定** 取 5 支四磨汤口服液,混合、摇匀、过 0.45 μm 的滤膜,取续滤液,得供试品溶液,进样 10 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件进行测定。15 批四磨汤口服液辛弗林的平均含量为 0.034 g·L<sup>-1</sup>,去甲异波尔定的平均含量为 0.041 g·L<sup>-1</sup>、槟榔碱的平均含量为 0.023 g·L<sup>-1</sup>。

### 3 讨论

槟榔碱、辛弗林和去甲异波尔定等生物碱类成分是四磨汤口服液中发挥药理作用的主要成分之一。因此,建立一种简单、经济和有效的分析方法测定四磨汤口服液中 3 种主要生物碱类成分,对于控制药品的质量是十分必要的。槟榔碱和辛弗林属于小分子量生物碱,且分子的极性较强,在一般反相色谱柱上的保留比较弱,往往需要在流动相中加入离子对试剂如 SDS 来提高其在色谱柱上的保留。为了

能同时测定四磨汤口服液中槟榔碱、辛弗林和去甲异波尔定 3 种生物碱的含量,考虑到一般反向色谱柱的应用 pH 范围多在 2~8,流动相 pH 对槟榔碱和辛弗林在反相色谱柱上的保留影响较大。流动相 pH 较低时,出峰时间极早,甚至无保留;流动相 pH 较高对色谱柱的损害较大。因此,选择对生物碱分离有专属性的 SCX 强阳离子型交换色谱柱对四磨汤口服液中的槟榔碱、辛弗林和去甲异波尔定 3 种生物碱的含量进行同时测定。

本方法简便、准确、可靠,对四磨汤口服液质量控制具有一定参考价值。同时原标准含量测定项仅控制枳壳药材成分,本方法同时检控了乌药、枳壳和槟榔三味药材成分,检测指标更全面。

### [参考文献]

- [1] 盛义朝,汪文涛,崇巍.一种治疗婴幼儿气滞腹痛、脘腹胀满和术后腹胀的口服液:中国,94110842.2[P].2001-06-13.
- [2] 任智红.四磨汤与金双歧辅助治疗新生儿黄疸[J].南京军医学院学报,2002,24(12):217.
- [3] 秀成玲.四磨汤辅助治疗新生儿高胆红素血症 36 例[J].陕西中医,2001,22(12):714.
- [4] 崔华秀,闫大志.四磨汤加味治疗胃神经官能症 33 例[J].现代中西医结合杂志,2006,15(1):81.
- [5] 吴学琴.四磨汤加西沙比利治疗便秘型肠易激综合征 28 例[J].河北医药,2003,25(3):203.
- [6] 刘干.四磨汤临证应用举隅[J].新中医,2008,40(7):97.
- [7] 李玉洁,刘柏炎,易健.四磨汤治疗非胃肠术后胃肠功能障碍的 Meta 分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):255.
- [8] 司春峰,魏睦新,轩原清史.氢溴酸槟榔碱对大鼠离体结肠平滑肌细胞作用的研究[J].上海中医药杂志,2004,38(3):48.
- [9] 倪依东,王建华,王汝俊.槟榔及槟榔碱对胃肠作用的对比研究[J].中药药理与临床,2004,20(2):11.
- [10] 官福兰,王如俊,王建华.枳壳及辛弗林对小鼠胃排空、小肠推进功能的影响[J].现代中西医结合杂志,2002,11(11):1001.
- [11] 官福兰.橙皮苷和辛弗林对胃平滑肌细胞的作用[J].中国药理学通报,2004,20(12):1420.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医学科技出版社,2010:71.

[责任编辑 顾雪竹]