

## 苦豆子片定性定量方法研究

毛艳<sup>1,2</sup>, 贺金华<sup>1,2</sup>, 黄华<sup>1\*</sup>, 康雨彤<sup>1,2</sup>, 戎晓娟<sup>1</sup>, 蔡晓翠<sup>1</sup>, 严欢<sup>1,2</sup>

(1. 新疆维吾尔自治区药物研究所 乌鲁木齐 830004;

2. 新疆维吾尔药重点实验室 乌鲁木齐 830004)

**[摘要]** 目的:建立苦豆子片的定性定量方法。方法:采用 TLC 法对方中苦豆子进行定性鉴别,同时采用 HPLC 法测定苦豆子片中苦参碱的含量。以乙腈-0.01 mol·L<sup>-1</sup>的碳酸铵溶液(20:80)为流动相,Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U C<sub>18</sub> 110A(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,检测波长为 220 nm,柱温 30 ℃,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>。结果:定性鉴别薄层色谱特征明显;HPLC 测定苦参碱质量浓度在 4.37~26.22 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好( $r=0.9995$ ),平均回收率 102.59%,RSD 0.75% ( $n=6$ )。结论:所建标准可用于苦豆子片的质量控制。

**[关键词]** 苦豆子片;薄层色谱;高效液相色谱;苦参碱

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0081-03

## Study on the Quality and Quantity Methods of Kudouzi Tablets

MAO Yan<sup>1,2</sup>, HE Jin-hua<sup>1,2</sup>, HUANG Hua<sup>1\*</sup>, KANG Yu-tong<sup>1,2</sup>,

RONG Xiao-juan<sup>1</sup>, CAI Xiao-cui<sup>1</sup>, YAN Huan<sup>1,2</sup>

(1. Xinjiang Institute of Material Medica, Urumqi 830004, China;

2. Key Laboratory of Xinjiang Uygur Medicine, Urumqi 830004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the methods for the quantification and quantitation of Kudouzi tablets. **Method:** *Sophora alopecuroides* was identified by TLC. The content of matrine was determined by HPLC. HPLC method was performed on a Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U C<sub>18</sub> 110A (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column with a mobile phase of acetonitrile-0.01 mol·L<sup>-1</sup> ammonium carbonate water (20:80). The flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>. The wavelength of detector was 220 nm and the column temperature was set at 30 ℃. **Result:** Characteristics of identification were very obviously. The linear range of matrine was 4.37-26.22 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9995$ ) with an average recovery of 102.59% (RSD 0.75%,  $n=6$ ). **Conclusion:** The method can be used for the quality and quantity control of Kudouzi tablets.

**[Key words]** Kudouzi tablets; TLC; HPLC; matrine

苦豆子为豆科植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的干燥成熟果实。主要分布于我国西北及中亚一带,含有生物碱、黄酮类、蛋白质、糖类、有机酸、色素等多种成分<sup>[1]</sup>。其中生物碱类成分有苦参碱

(matrine)、氧化苦参碱(oxymatrine)、槐果碱(sophocarpine)、槐定碱(sophoridine)等,具有明显的抗菌、增强抵抗力和免疫力、抗变态性炎症和抗乙肝、升高白血球等药理作用。苦豆子片为《中华人民共和国国家药品监督管理局标准(试行)》收载,处方由苦豆子单味药材组成,主要用于清肠、燥湿、急性胃肠炎等肠道疾病。本文建立了苦豆子片中有有效成分苦参碱含量测定项,并增加了槐定碱和苦参碱的 TLC 鉴别。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-2010C 型高效液相色谱仪;Shimadzu

**[收稿日期]** 20120327(012)

**[基金项目]** 新疆“十二五”重大专项“新疆维吾尔药与特色天然药物创制及产业化示范”(201130105)

**[第一作者]** 毛艳,助理研究员,从事药物分析研究,Tel:0991-2322941,E-mail:maoyan7529@163.com

**[通讯作者]** \*黄华,研究员,药理与毒理学研究,Tel:0991-2812061,E-mail:huangh6505@163.com

CLASS-VP V6.14 SP1 数据工作站;BP211D 型分析天平(德国赛多利斯,  $d = 0.01 \text{ mg}$ );SK3300H 型超声波清洗器(上海申生科技有限公司)苦参碱(批号 110805-200508, 含量测定用)、氧化苦参碱(批号 110780-200506, 含量测定用)、槐定碱(批号 110784-200804, 鉴别用)对照品均购自中国药品生物制品检定所, 苦豆子片(批号 20111017, 20111018, 20111019, 由新疆制药厂提供,  $0.125 \text{ g/片}$ ), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 苦豆子薄层色谱鉴别** 取本品 1 g, 研细, 置 50 mL 磨口锥形瓶中, 加入三氯甲烷 25 mL、浓氨水 2 mL, 混匀, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取苦参碱对照品、槐定碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 2.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按工艺要求制成缺苦豆子的阴性供试品, 照供试品溶液制备方法, 制得阴性对照溶液。按薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部, 附录 VIB) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-浓氨水(5:0.6:0.3, 下层)为展开剂, 展开, 展距约 10 cm, 取出, 晾干, 喷以改良碘化铋钾试液, 在日光下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点; 阴性供试品色谱中, 在与对照品色谱中相应的位置上, 未显相同颜色的斑点。

## 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件** Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U  $\text{C}_{18}$ 110A(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 乙腈-0.01 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 碳酸铵溶液(20:80)为流动相, 检测波长 220 nm, 流速 1 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

### 2.2.2 溶液的制备

**2.2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取置五氧化二磷减压干燥 12 h 以上的苦参碱对照品适量, 加乙腈制成每 1 mL 含 0.437 mg 的溶液, 即得对照品储备液。

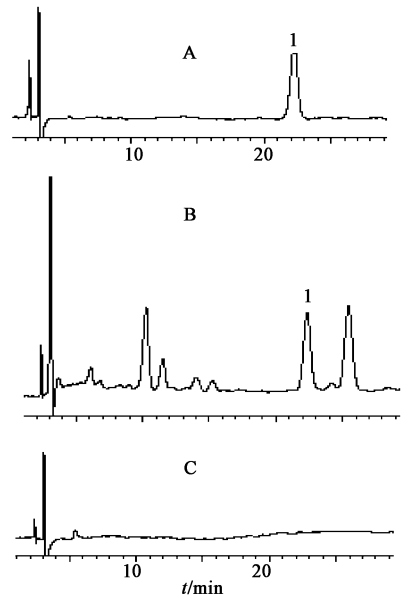
**2.2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品 20 片, 除去肠溶衣, 取本品粉末(过五号筛)0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加浓氨水 0.5 mL, 加三氯甲烷 20 mL, 称定质量, 超声处理(250 W, 40 kHz)30 min, 放冷, 再称定质量, 用三氯甲烷补足减失质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 回收溶剂至干, 残渣加乙腈适量溶解, 置 10 mL 量瓶中, 加乙腈至刻度, 摇

匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.2.3 阴性样品溶液的制备** 取处方中缺药材的辅料, 依供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

**2.2.3 系统适用性实验** 按 2.2.1 项下方法进行系统适用性实验, 结果理论塔板数以苦参碱峰计为 7 340, 分离度为 2.1, 拖尾因子为 0.97, 均符合药典规定。

**2.2.4 专属性实验** 按 2.2.2.2 项下方法进行制备供试品溶液, 依法进行测定, 记录色谱图。图谱显示阴性无干扰, 见图 2。



1. 苦参碱

图 1 苦参碱对照品(A)、供试品(B)和阴性样品(C)色谱

**2.2.5 线性关系考察** 分别精密吸取苦参碱对照品储备液(0.437 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL 置 10 mL 量瓶中, 加乙腈至刻度, 摇匀。分别进样 10  $\mu\text{L}$ , 依法测定苦参碱峰面积。以对照品浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。其回归方程为  $Y = 13\,426X + 6\,623.7$  ( $r = 0.9995$ )。结果表明苦参碱浓度在 4.37 ~ 26.22 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.2.6 精密度试验** 取同一供试品溶液(批号 20111017), 按 2.2.1 方法重复进样 6 次, 测定苦参碱峰面积, 计算 RSD 0.78% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

**2.2.7 重复性试验** 取同一批号供试品(批号 20111017)6 份, 精密称定, 按 2.2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 方法进样, 结果苦参碱平均含量为 0.238 mg/片, RSD 1.56% ( $n = 6$ ), 表明本方法重复性良好。

**2.2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号20111017),室温放置,分别于0,2,4,6,8,12,24,48 h,按2.2.1方法测定,记录苦参碱峰面积,计算日内RSD 0.85%,日间RSD 1.36%,其峰形和含量变化不大,表明溶液在48 h稳定。

**2.2.9 加样回收率试验** 称取已知含量的供试品(批号20111017)约0.15 g,共6份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入苦参碱对照品储备液0.65 mL,按2.2.2.2项下方法制备,分别进样10  $\mu\text{L}$ ,依法进行测定,结果见表1。

表1 苦参碱加样回收率试验( $n=6$ )

No.	样品量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.151 33	0.288	0.284	0.579	102.36	102.59	0.75
2	0.150 01	0.286	0.284	0.575	101.98		
3	0.150 08	0.286	0.284	0.581	103.91		
4	0.150 07	0.286	0.284	0.577	102.68		
5	0.150 24	0.286	0.284	0.575	101.76		
6	0.150 21	0.286	0.284	0.578	102.87		

**2.2.9 3批供试品含量测定** 称取3批供试品,按2.2.2.2项下方法制备供试品溶液,依法测定,分别进样10  $\mu\text{L}$ ,结果苦豆子片中苦参碱的含量分别为0.238,0.240,0.240 mg/片。

### 3 讨论

文献中报道的苦参碱多采用氨基键合硅胶为填充剂,以乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10)为流动相,其峰型较差,分离度也不符合要求。苦参碱属于喹诺里西啶类生物碱,其母核 pKa 约为 10,当

采用 Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U  $\text{C}_{18}$  柱,乙腈-0.04%的氨水(22:78),得到对称且无干扰的峰形,因试验过程发现氨水做流动相,pH 范围波动较大。后采用乙腈-0.01  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的碳酸铵溶液(20:80)为流动相时,实验过程 pH 稳定,且峰形及分离效果都较好。

考察了样品的不同处理方法,使其生物碱游离,然后采用亲脂性溶剂进行提取。当采用药典中苦参的处理方法<sup>[2-4]</sup>和碱化的甲醇直接超声处理时,图谱中杂峰干扰较大,且苦参碱的含量偏低。后采用苦豆子片的酸水解液<sup>[5]</sup>,用浓氨试液调 pH 9~10,与三氯甲烷萃取后的溶液和直接用三氯甲烷和浓氨试液超声处理后蒸干,用乙腈定容的溶液含量接近,且后者处理方法简单,峰型对称,干扰较少,重复性好。

### [参考文献]

- [1] 祁燕蓉,何生皮,史光亮. 苦豆子的研究进展[J]. 甘肃畜牧兽医,2008,38(6):36.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:188.
- [3] 宋玉琴,魏玉辉,刘文静,等. HPLC法同时测定苦豆子乳膏中槐定碱、苦参碱和槐果碱的含量[J]. 中国药房,2008,19(24):1878.
- [4] 麻印莲,李丽,张村,等. 苦参饮片产地加工方法探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):57.
- [5] 胡慧香,张智敏. 复方苦豆子栓剂的质量标准考察[J]. 山西中医学院学报,2010,11(1):50.

[责任编辑 顾雪竹]