

# RP-HPLC 测定藏成药十味手参散中胡椒碱的含量

陈海娟<sup>1\*</sup>, 纪兰菊<sup>2</sup>

(1. 青海师范大学生命与地理科学学院, 青藏高原环境与资源教育部重点实验室, 西宁 810008;  
2. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008)

**[摘要]** 目的: 建立藏成药十味手参散中胡椒碱的含量测定方法。方法: 色谱条件 Kromasil-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(77:23), 检测波长 343 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 胡椒碱在 0.448 ~ 2.24 μg 呈良好线性关系 ( $r = 0.9995$ ), 十味手参散中胡椒碱的平均回收率为 99.43% ( $n = 6$ )。结论: 所建立的方法简便、快速、准确、灵敏度高、重复性好, 可有效控制藏成药十味手参散的质量。

**[关键词]** 十味手参散; 胡椒碱; 反相高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0122-04

## Content Determination of Piperine in Shiwei Shoushen Powder by RP-HPLC

CHEN Hai-juan<sup>1\*</sup>, JI Lan-ju<sup>2</sup>

(1. School of Life and Geographical Science, Qinghai Normal University, Key Laboratory of Education Department of Environment and Resources on Qinghai-Tibetan Plateau, Xining 810008, China;  
2. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China)

**[收稿日期]** 20111116(004)

**[通讯作者]** \* 陈海娟, 硕士, 讲师, 从事中药资源的开发和利用, Tel: 0971-6307616, E-mail: haijuanchen84@163.com

毒片中 7 种指标成分盐酸小檗碱、没食子酸、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素、大黄素甲醚份的分离度均 > 1.5, 并能同时测定其含量。

**3.4 检测波长的选择** 该制剂中的 7 种成分的最大吸收波长相差较远, 因此采用全波长检测器进行全波长扫描, 选择能使 7 种成分都有较好吸收的波长作为检测波长, 最终确定检测波长为 310 nm。

**3.5 小结** 本文所建立的含量测定方法, 采用同一色谱条件对双黄祛毒片方中的 7 个主要成分同时进行测定, 操作简便, 节约成本, 能有效提高分析效率, 可在此基础上为该制剂指纹图谱的建立提供参考。

### [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010;22,62,285.  
[2] 岳淑梅, 冯玲玲, 齐潇潇, 等. 肝宁颗粒中大黄所含 5 种蒽醌苷元的 HPLC 测定[J]. 中成药, 2008, 30(8):1155.  
[3] 谭志国, 雷鹏, 李新中, 等. 高效液相色谱法测定大黄不同炮制品中没食子酸的含量[J]. 中南药学, 2007, 5

(5):479.

[4] 冯有龙, 余伯阳, 董小平. 高效液相色谱法同时测定三黄片中的蒽醌类、黄酮类及生物碱类化合物[J]. 药学学报, 2006, 41(3):285.  
[5] 赵英日, 罗兰, 崔红花. 考察甲醇浓度对大黄中 5 种蒽醌类化合物含量的影响[J]. 中国民族民间医药杂志, 2009, 18(13):40.  
[6] 夏从龙, 周浓, 种佳. HPLC 测定不同厂家牛黄消炎片中 5 种蒽醌类衍生物的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):83.  
[7] 李艳芳, 夏泉, 许风清, 等. HPLC 法同时测定热淋清制剂中没食子酸和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12):15.  
[8] 梁永锋. 掌叶大黄与河套大黄化学成分的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(26):12540, 12558.  
[9] 陈剑平, 李一圣, 卢小凤, 等. 反相高效液相色谱法同时测定黄芩胃片中野黄芩苷、盐酸小檗碱及丹皮酚的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10):2157.

[责任编辑 顾雪竹]

**[ Abstract ] Objective:** To establish a feasible method for the content determination of piperine in Shiwei Shoushen powder by RP-HPLC. **Method:** An HPLC method was adopted with column Kromasil-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was consisted of methanol-water (77:23). The flow velocity was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was at 343 nm. **Result:** The calibration curve showed a good linearity with in the range of 0.448-2.24 μg. The average recovery was 99.43%. **Conclusion:** This method is convenient, rapid and reliable for quality control of this preparation.

**[ Key words ]** Shiwei Shoushen powder; piperine; RP-HPLC

藏成药十味手参散由手参、刀豆、石榴子、熊胆、豆蔻、芫荽、桂皮、天冬、红花、人工麝香等10味原生藏药材精制而成。芫荽为十味手参散中的主药之一,具有温中下气、补腰脚痛、消食、除胃冷的作用。藏成药十味手参散的质量标准收载于《药品标准》(藏药,1995年版)中<sup>[1]</sup>,规定的检测项目只有性状鉴别和制剂常规检查。为了提高藏药的质量标准,本实验结合相关研究<sup>[2-5]</sup>,采用高效液相色谱法对十味手参散中胡椒碱进行了定量分析研究,为该产品的质量评价提供了客观的定量评价方法。

## 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪器包括Lc-10Ap二元泵(岛津公司),Rheodyne7725进样器(美国),SPDM10AVP二极管阵列检测器(岛津公司),Class-VP液相色谱工作站(岛津公司),甲醇为国产分析纯试剂,色谱甲醇(山东禹王试剂公司),胡椒碱对照品为中国药品生物制品检定所提供,批号0775-9702,十味手参散(青海帝玛尔药业有限公司,20101023-20101028)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Kromasil-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(77:23),检测波长为343 nm,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温25℃,理论塔板数按胡椒碱峰计算不低于1 500。

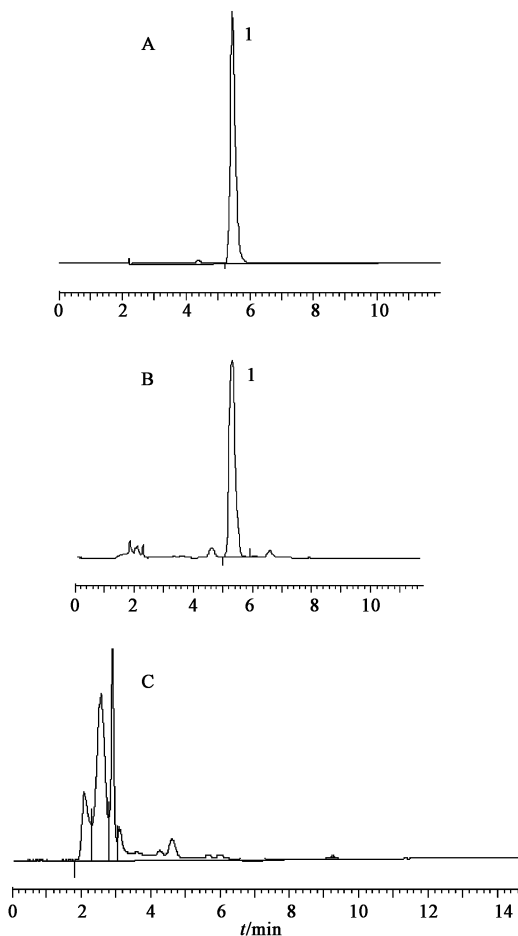
### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取胡椒碱对照品适量,加无水乙醇制成每1 mL含0.112 mg的溶液,摇匀,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取待测制剂2.0 g,精密称定,置200 mL具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇200 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min,放冷,用无水乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.3 阴性对照品溶液的制备** 按制剂处方比例制备不含芫荽药材的阴性对照品,取阴性对照品,按2.2.2项下方法制备阴性对照品溶液,备用。

**2.3 系统适用性试验** 在上述色谱条件下,分别量取胡椒碱对照品溶液,供试品溶液和阴性对照品溶液各10 μL,注入高效液相色谱仪测定,结果见图1。由图可知,阴性样品对胡椒碱的测定没有干扰,而且胡椒碱与其他组分可以达到基线分离。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性; 1. 胡椒碱

图1 十味手参散的HPLC

**2.4 线性关系** 精密吸取胡椒碱对照品溶液4.0, 8.0, 12.0, 16.0, 20.0 μL注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分为纵坐标,胡椒碱的含量为纵坐标,绘制标准曲线,并计算回归方程, $Y = 753\,425.3X + 486\,370.2$  ( $r = 0.999\,5$ ),表示胡椒碱在0.448 ~ 2.24 μg有良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取上述对照品溶液,每次进样 10  $\mu\text{L}$ ,重复进样 6 次,记录色谱峰面积,RSD 0.97%。

**2.6 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10,12 h 进行测定,记录色谱峰面积,RSD 0.41%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批号的样品 6 份,照供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液,按样品测定法测定,记录峰面积,RSD 0.72%。

**2.8 加样回收率试验** 精密称定已知胡椒碱含量的十味手参散样品 6 份(批号 20101023),分别加入一定量的胡椒碱对照品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,分别取所制备的溶液 10  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件进行测定,记录色谱峰面积,计算胡椒碱的加样回收率,结果见表 1。

表 1 样品中胡椒碱加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品中 含量 /mg·g <sup>-1</sup>	加入量 /mg·g <sup>-1</sup>	测得量 /mg·g <sup>-1</sup>	回收率 /%	平均值 /%
1	1.007 2	4.180	3.80	8.04	101.40	99.43
2	0.985 5	4.090	3.80	7.84	98.68	
3	0.952 0	3.951	3.80	7.59	95.05	
4	1.006 4	4.183	3.80	8.04	101.50	
5	0.983 1	4.080	3.80	7.80	97.56	
6	1.002 5	4.161	3.80	8.02	101.60	

**2.9 样品含量测定** 取不同批号的样品 6 批,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,分别进样 10  $\mu\text{L}$ ,记录色谱峰峰面积,以外标法计算供试品种并计算本品中胡椒碱的含量,结果见表 2。

表 2 6 批供试品中胡椒碱的测定 mg·L<sup>-1</sup>

批号	胡椒碱含量	平均
20101023	9.36	9.44
20101024	7.36	7.52
20101025	9.20	8.40
20101026	9.44	9.52
20101027	7.36	7.36
20101028	8.40	8.40

### 3 讨论

本处方为经典藏药处方,根据质量标准研究的要求,应选其处方中的君、臣、左、使药材中某一成分为定量指标,但由于藏药药材中药物化学成分及质量标准研究相对滞后,因此,选用处方中华芫药材的主要成分胡椒碱作为含量测定项下的检测指标。

本实验中对供试品溶液的提取溶剂(甲醇、50% 甲醇、无水乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇)、提取方法(超声处理、回流提取)、提取溶剂用量(150,200,250 mL)和提取时间(15,30,45 min)进行了比较研究。结果表明,无水乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇提取的胡椒碱含量均较高,但无水乙醇提取的胡椒碱峰理论塔板数高,峰形好,故采用无水乙醇为提取溶剂。2 种提取方法提取的胡椒碱的含量接近,故选用较为简单的超声处理。3 个梯度的提取时间和 3 个梯度的溶剂量提取的胡椒碱的含量很接近,表明无水乙醇 200 mL 超声处理 30 min 已能提取完全。

胡椒碱的含量测定可作为十味手参散的质量控制标准,所用方法简便灵敏、快速准确、重复性好,可用于控制藏成药十味手参散的质量。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准藏药. 第一册[S]. 北京:1995,22(1):176.
- [2] 胡婧,易凡力,刘松青. 十五味黑药丸中 4 种活性成分的定性鉴别及胡椒碱的含量测定[J]. 第三军医大学学报,2010,32(6):621.
- [3] 叶静,肖美添,张学勤. RP-HPLC 法测定红花如意胶囊中胡椒碱的含量[J]. 药物分析杂志,2010,16(9):154.
- [4] 毕赢,刘军辉,罗容,等. HPLC 同时测定芫芫中胡椒碱和芫芫明宁碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(1):47.
- [5] 吴红彦,樊秦,纪兰菊. 藏药石榴健胃片质量控制方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):70.

[责任编辑 顾雪竹]

# 乳康胶囊质量标准研究

叶延程, 赵良存\*

(甘肃省武威肿瘤医院, 甘肃 武威 733000)

**[摘要]** 目的: 建立乳康胶囊的质量控制方法。方法: 对乳康胶囊中青皮、柴胡进行薄层色谱鉴别; 采用 HPLC 对柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 进行总含量测定。结果: 薄层色谱斑点清晰, 阴性对照无干扰; 柴胡皂苷 a 进样量在 2.04 ~ 14.28  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9998$ )、柴胡皂苷 d 进样量在 2.52-17.64  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9995$ ) 线性关系良好。平均回收率为 99.15%, RSD 0.54% ( $n = 9$ )。结论: 建立的 TLC 和 HPLC 专属性强、准确度高、重复性好, 可用于乳康胶囊的质量控制。

**[关键词]** 乳康胶囊; 质量标准; 高效液相色谱法; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0125-04

## Quality Standard of Rukang Capsule

YE Yan-cheng, ZHAO Liang-cun\*

(Department of Pharmacy, Gansu Wuwei Tumor Hospital, Wuwei 733000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To established the method for quality control of Rukang capsule. **Method:** Citri Reticulatae Pericarpium viride, Bupleuri Radix in Rukang capsule were identified by TLC. The content of saikosaponin a and Saikosaponin d in Rukang Capsule was determined by HPLC. **Result:** The spots on the TLC plate were clear and the negative control sample didn't disturb. A good linearity was obtained for saikosaponin a in the range of 2.04-14.28  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9998$ ) and saikosaponin d in the range of 2.52-17.64  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9995$ ). The average recovery was 99.15% (RSD 0.54%,  $n = 9$ ). **Conclusion:** The method are specific, accurate and reproducible, and can be used for quality control of Rukang capsule.

**[Key words]** Rukang capsule; quality standard; HPLC; saikosaponin a; saikosaponin d

乳康胶囊处方由柴胡、青皮、郁金、三棱、莪术、香附、海藻、王不留行等 12 味组成, 具有疏肝解郁、软坚散结、活血破瘀、理气止痛的功能, 为了有效的控制制剂质量, 本文采用薄层色谱法对本制剂中青皮、柴胡进行了定性分析, 通过 HPLC 法对柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 进行总含量测定。

### 1 仪器与试剂

SSIPC2000 型单泵高效液相色谱仪, 紫外检测器, N-2000 工作站, (天津市兰博实验仪器设备有限公司), TG328B 型分析天平 (上海天平仪器厂), 三用紫外线分析仪 (上海顾村电光仪器厂), HS3120

型超声波清洗器 (天津市兰博实验仪器设备有限公司)。

柴胡对照药材 (批号 120992-200605), 陈皮苷对照品 (批号 110721-200512), 柴胡皂苷 a (批号 110777-200406, 供含量测定用), 柴胡皂苷 d 对照品 (批号 110777-200505, 供含量测定用) 均由中国药品生物制品检定所提供。乳康胶囊 (甘肃省武威肿瘤医院制剂室, 批号 20110815, 20110402, 20110112, 20101007, 20101105), 阴性对照样品自制, 所用药材均符合《中国药典》2010 年版一部有关要求, 硅胶 G 薄层板 (青岛胜海化工有限公司), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 青皮的鉴别**<sup>[1]</sup> 取本品内容物及阴性对照样品各 5 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL, 作为供试品溶液及阴

**[收稿日期]** 20111222(011)

**[基金项目]** 叶延程, 博士, 主任药师, 从事临床药学及中药制剂研究, Tel: 0935-2268000

**[通讯作者]** \* 赵良存, 副主任药师, 从事临床药学及中药制剂研究, Tel: 0935-2267942