

# HPLC-ELSD 测定蛇胆川贝散生产过程西贝母碱的含量变化

霍务贞<sup>1</sup>, 朱盛山<sup>1\*</sup>, 邬威尧<sup>2</sup>, 唐鹰<sup>2</sup>

(1. 广东药学院中药开发研究所, 国家中管局三级实验室, 广州 510006;  
2. 佛山冯了性药业有限公司, 广东 佛山 528000)

**[摘要]** 目的: 检测蛇胆川贝散生产过程中西贝母碱含量的变化, 为生产工艺和质量控制提供实验依据。方法: 用 Agilent TC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.02% 二乙胺水溶液系统为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 蒸发光散射检测器的漂移管温度 40 °C, 气体流速 2.4 L·min<sup>-1</sup>, 增益 1。结果: 西贝母碱在进样量 1.032 ~ 20.64 μg 与峰面积呈良好线性关系 ( $r=0.999\ 97$ ), 方法回收率为 98.90% (RSD 为 2.89%)。蛇胆川贝散原料药灭菌前后及制剂成品中含量分别为 0.333 6, 0.318 6, 0.293 0 mg·g<sup>-1</sup>。结论: 本方法快速、简便、准确、重复性好, 能快速准确测定制剂过程中的原料药、灭菌后中间品和制剂成品的含量, 为本品质量控制提供依据。

**[关键词]** 高效液相色谱-蒸发光检测; 蛇胆川贝散; 西贝母碱; 质量控制

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0093-03

## Determination of Sipeimine in Shedan Chuanbei Powder by HPLC-ELSD

HUO Wu-zhen<sup>1</sup>, ZHU Sheng-shan<sup>1\*</sup>, WU Wei-yao<sup>2</sup>, TANG Ying<sup>2</sup>

(1. Research and Development Institute of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University/  
Class III Laboratory of Modern Chinese Medicine Preparation, SATCM, Guangzhou 510006, China;  
2. Foshan Fengliaoqing Pharmaceutical Co. Ltd, Foshan 528000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC-ELSD method for the determination of sipeimine in shedan chuanbei powder of different process of production. **Method:** The column of TC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile-0.06% diethylamine-water. Drift tube temperature of ELSD was 40 °C, gas flow was 2.4 L·min<sup>-1</sup> and gain was 1. **Result:** The sipeimine calibration curves were linear in the range of 1.032-20.64 μg,  $r=0.999\ 97$ ). The average recovery was 98.90% with the RSD value of 2.89% ( $n=6$ ). Sipeimine of the sample in Shedan Chuanbei Powder production process were 0.333 6, 0.318 6, 0.293 0 mg·g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The method can be used to determine the content of sipeimine in Shedan Chuanbei powder.

**[Key words]** HPLC-ELSD; Shedan Chuanbei powder; sipeimine; quality control

蛇胆川贝散为《中国药典》2010 年版一部收载品种, 由蛇胆汁与川贝母两味药材组成, 具有清肺, 止咳, 除痰的功效。方中川贝为百合科贝母属植物的干燥鳞茎, 具有清热润肺、化痰止咳的功效<sup>[1]</sup>, 具有“止咳圣药”之称, 其所含的西贝母碱具有镇咳作用, 是《中国药典》2010 年版一部川贝药材含量测定

项下用于测定总生物碱含量的对照品<sup>[2]</sup>, 控制西贝母碱的含量对于提高蛇胆川贝散的内在质量至关重要。而蛇胆川贝散药典含量测定项只对方中蛇胆成分牛黄胆酸钠作出含量限量规定, 并未对方中川贝成分进行含量规定。为了更好地控制制剂的内在质量, 提高制剂的质量检测标准, 保证制剂的临床疗效, 本实验建立了 HPLC-ELSD 法, 对方中川贝的主要药效成分西贝母碱进行含量测定, 并对制剂过程中的原料药、灭菌后中间品和制剂成品进行含量测定, 为本品质量控制提供依据。

### 1 仪器与试剂

Agilent 高效液相色谱仪, Alltech 3300 蒸发光散射检测器 (ELSD, 格雷斯中国有限公司), Sartorius

**[收稿日期]** 20111013(011)

**[基金项目]** 粤港关键领域重点突破项目 (TC08BE33-6)

**[第一作者]** 霍务贞, 助理研究员, 从事新药开发与质量标准研究工作, Tel: 020-39352540, E-mail: huowz@163.com

**[通讯作者]** \* 朱盛山, 教授, 从事新药开发与药物新剂型研究工作

Bp211D 型电子天平。

西贝母碱(中国药品生物制品检定所,批号 110767-201005);乙腈为色谱纯,水为三蒸水,其他溶剂均为分析纯。蛇胆川贝散灭菌前后川贝及制剂成品均由课题组合作单位佛山冯了性药业有限公司提供。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水-二乙胺(25:75:0.02),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温室温,检测器 Alltceec 3300 ELSD,漂移管温度 40 °C,气体流速 2.4 L·min<sup>-1</sup>,增益 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取西贝母碱对照品 5 mg 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度的储备液,配制成质量浓度为 0.508 g·L<sup>-1</sup>的西贝母碱对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取样品粉末约 10 g 精密称定,置具塞锥形瓶中,加浓氨试液 15 mL,浸润 1 h,加三氯甲烷-甲醇(4:1)混合液 40 mL,置 80 °C 水浴加热回流 2 h,放冷,滤过,加溶剂洗涤残渣和滤纸,滤液蒸干,加甲醇适量使溶解,并转移至 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度摇匀,以 0.22 μm 微孔滤膜过滤,滤液备用。

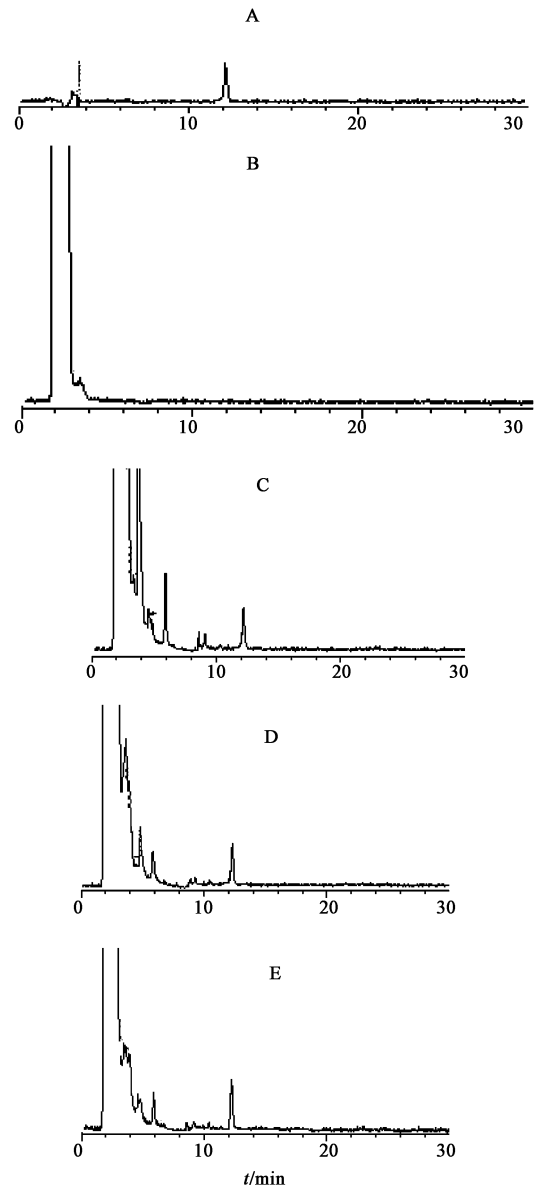
**2.4 阴性供试品溶液的制备** 取蛇胆汁乙醇液 5 mL,水浴锅上蒸干,加甲醇适量使溶解,并转移至 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度摇匀,以 0.22 μm 微孔滤膜过滤,滤液备用。

**2.5 方法专属性** 分别精密吸取前述对照品溶液、供试品溶液与阴性供试品溶液各 20 μL 在上述的色谱条件下进样测定,色谱图见图 1。由色谱图可见西贝母碱在 ELSD 色谱图中分离良好,不受其他组分的干扰。

**2.6 线性关系考察** 分别精密吸取西贝母碱对照品溶液 2,4,8,16,20,40 μL 进样。依上述色谱条件测定,以西贝母碱峰面积为纵坐标,西贝母碱对照品的量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为  $Y = 1\,403.8X - 1\,018$  ( $r = 0.999\,97$ ),结果表明西贝母碱对照品在 1.032 ~ 20.64 μg 呈良好线性。

**2.7 精密度试验** 吸取供试品溶液 20 μL,按上述色谱条件连续进样 6 次,结果西贝母碱平均峰面积的 RSD 为 1.75%,表明本方法精密度良好。

**2.8 稳定性试验** 吸取供试品溶液 20 μL,按上述色谱条件,于 0,1,4,8,12,24 h 进样,测定其峰面积积分值,结果西贝母碱峰面积的 RSD 为 2.0%,表



A. 西贝母碱 HPLC-ELSD; B. 阴性对照液 HPLC-ELSD; C. 川贝药材灭菌前 HPLC-ELSD; D. 川贝药材灭菌后 HPLC-ELSD; E. 蛇胆川贝散 HPLC-ELSD

图 1 川贝散色谱

明供品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.9 重复性试验** 取川贝药材灭菌前样品,按 2.3 项下方法平行制备 6 份溶液,分别进样 20 μL 测定,结果西贝母碱的平均含量为 0.029 4%,RSD 为 3.71%,表明本方法重复性良好。

**2.10 加样回收率试验** 取已知含量的蛇胆川贝散粉末共 6 份,另取 1 mL 的标准品储备液(1 g·L<sup>-1</sup>)定容于 10 mL 的量瓶中备用,按 2.3 项下方法制备样品溶液,按上述色谱条件进样 20 μL 测定西贝母碱的含量,计算回收率,结果见表 1,RSD 为 2.89%。

表1 西贝母碱加样回收率测定( $n=3$ )

编号	含量	加入量	实测含量	回收率	RSD	
	/mg	/mg	/mg	/%	/%	
1	1.182 3	1	2.134 7	95.24	98.90	2.89
2	1.244 3	1	2.265 4	102.1		
3	1.176 4	1	2.137 1	96.07		
4	1.270 2	1	2.241 0	97.07		
5	1.177 0	1	2.196 9	101.9		
6	1.285 7	1	2.296 0	101.0		

**2.11 蛇胆川贝散制剂过程样品含量测定** 蛇胆川贝散工艺为优选合格川贝,灭菌后粉碎过筛与蛇胆汁混匀后分装。因此本实验取5批次制剂过程中的原料药、灭菌后粉碎的中间品和制剂成品按上述方法制备供试品溶液,分别精密吸取供品溶液和西贝母碱对照品溶液各20  $\mu\text{L}$ ,注入高效液相色谱中,按上述色谱条件测定,按外标法计算供试品溶液中的含量,监测川贝灭菌前后含量有无变化,并计算蛇胆川贝散中西贝母碱的转移率。5批次结果见表2。

表2 样品含量测定( $n=3$ )

批次	样品名	西贝母碱	转移率
		/mg·g <sup>-1</sup>	/%
1	川贝灭菌前样品	0.341 7	100
	川贝灭菌后样品	0.334 5	97.89
	蛇胆川贝散	0.295 4	93.10
2	川贝灭菌前样品	0.333 7	100
	川贝灭菌后样品	0.318 2	95.36
	蛇胆川贝散	0.302 9	97.75
3	川贝灭菌前样品	0.328 5	100
	川贝灭菌后样品	0.313 4	95.40
	蛇胆川贝散	0.282 9	92.74
4	川贝灭菌前样品	0.348 1	100
	川贝灭菌后样品	0.327 7	94.14
	蛇胆川贝散	0.306 3	94.76
5	川贝灭菌前样品	0.315 8	100
	川贝灭菌后样品	0.299 2	94.74
	蛇胆川贝散	0.277 3	94.56

由表中数据可见,5批次制剂制备过程中的原料药、灭菌后中间品和制剂成品相应样品西贝母碱含量分别为0.333 6,0.318 6,0.293 0 mg·g<sup>-1</sup>,RSD分别为3.33%,3.82%,3.83%,表明5批次样品质

量和制剂工艺稳定。转移率基本稳定在92%以上,表明制备过程中药物损失较少。

### 3 讨论

从制剂过程中的原料药、灭菌后中间品和制剂成品中西贝母碱的含量可以看到,西贝母碱的含量变化不大,表明灭菌对复方中西贝母碱的含量影响不大,其原因可能与该制剂为散剂,水分含量较少有关,因此,除控制灭菌参数外,水分的控制也至关重要。

从图1可见,图谱各样品峰组成不变, $t_{\text{R}}=5.9$  min成分A,在灭菌前样品中平均含量为西贝母碱的1.75倍,灭菌后在样品中平均含量为西贝母碱的1.0倍,在散剂中为西贝母碱的0.88倍,含量变动较明显,其他成分含量变化不大,提示灭菌及制成制剂后成分A有较大损失,其他成分含量变化不大。对于A成分的鉴定,实验正在进行中。

川贝主要含有甾体类生物碱<sup>[3]</sup>,由于大部分甾体类生物碱中少有或没有共轭双键。受到紫外末端检测灵敏度低的影响,反相HPLC定量分析方法一直都没有取得满意的进展<sup>[4]</sup>,且《中国药典》2010年版一部川贝项下含量测定也是以西贝母碱做参照,用紫外-可见分光光度法对其总生物碱进行含量测定,目标组分提取后显色过程操作繁琐,耗时耗能。本研究建立了HPLC-ELSD法对蛇胆川贝散中西贝母碱进行含量测定,能够方便快捷的测定复方制剂过程中各样品的西贝母碱含量,为本品实际生产质量控制提供依据。

### [参考文献]

- [1] 张兰珍,樊晓霞,郭亚健.薄层扫描法测定蛇胆川贝液中贝母甲素、贝母乙素含量[J].中国实验方剂学杂志,1996,2(6):2.
- [2] 中国药典.一部[S].2010;34,1076.
- [3] 肖培根,姜艳,李萍,等.中药贝母的基原植物和药用亲缘学的研究[J].植物分类学报,2007,45(4):473.
- [4] 黄林芳,陈士林,刘辉,等.HPLC-ELSD测定不同加工方法川贝母中3种生物碱[J].中成药,2009,31(10):1560.

[责任编辑 蔡仲德]