

参柏胶囊的定性定量方法研究

朱立范^{1*}, 刘力²

(1. 上海医药职工大学, 上海 200050; 2. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021)

[摘要] 目的: 建立参柏胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对参柏胶囊中苦参和黄柏进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱法测定苦参碱含量。结果: 薄层色谱鉴别无干扰。苦参碱线性范围为 0.037 ~0.740 μg , 相关系数为 0.999 5, 平均回收率 98.6%, RSD 3.1%。结论: 该方法简便可靠, 结果准确, 可作为参柏胶囊的质量控制方法。

[关键词] 参柏胶囊; 苦参碱; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1

[文献标识码] B

[文章编号] 1005-9903(2010)04-0070-02

参柏胶囊具有疏风清热, 除湿止痒等功效, 临床上用于治疗皮炎、湿疹类疾病。本文对参柏胶囊进行了定性定量方法研究。对胶囊中的苦参和黄柏进行薄层色谱鉴别, 并建立了主要有效成分苦参碱含量测定的高效液相色谱法, 方法简便, 专属性强, 可以用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪, 包括 HP1100 可变波长检测器, 化学工作站(美国惠普); CQX25-06 超声波清洗器(上海必能信超声有限公司)。

苦参碱、盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110805-200507, 0713-9906); 参柏胶囊(自制, 批号为 080301, 080302, 080303); 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂分厂, 批号 20071008); 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 苦参鉴别 取参柏胶囊内容物 0.5 g, 加水 15 mL, 搅匀, 用三氯甲烷振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取苦参碱对照品, 加无水乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺苦参的参柏胶囊同法制成阴性对照溶液。分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-丙酮-醋酸乙酯-浓氨试液(2:3:4:0.2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以稀碘化铋钾试液。供试品色谱中, 在与对

照品色谱相应的位置上, 显相同的橙色斑点, 阴性对照无干扰。

2.1.2 黄柏鉴别 取 2.1.1 项下的供试品溶液作为供试品溶液。另取盐酸小檗碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺黄柏的参柏胶囊同法制成阴性对照溶液。分别吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 3 μL , 对照品溶液 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-冰醋酸-水(7:1:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的黄色荧光斑点, 阴性对照无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 DiamonsilTM C₁₈ 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾(含 0.2% 三乙胺)(6:4), 检测波长 210 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 流速 0.7 mL·min⁻¹。

2.2.2 线性关系的考察 取苦参碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.037 mg 的对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 以苦参碱进样量(μg)为横坐标, 峰面积的积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=2.98 \times 10^3 X-27.9$, 相关系数 $r=0.999 5$ 。结果表明, 苦参碱在 0.037 ~0.740 μg , 峰面积积分值与进样量呈良好的线性关系。

2.2.3 供试品溶液的制备 取参柏胶囊内容物, 研细, 取约 0.15 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加水 50 mL, 称定质量, 超声 30 min, 冷至室温, 称定质量, 用水补足失重, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 空白对照试验 取缺苦参的参柏胶囊, 按

[收稿日期] 2009-10-09

[通讯作者] * 朱立范, Tel: (021) 62522920; E-mail: zhulif218@126.com

2.2.3 项下方法制成苦参阴性对照溶液。吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 10 μL, 在上述色谱条件下, 分别注入液相色谱仪, 结果表明, 参柏胶囊中其它组分不干扰苦参碱的测定。

2.2.5 精密度试验 精密吸取苦参碱对照品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 结果其 RSD 为 0.78%

2.2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 分别于 2, 4, 6, 8, 10 h 进样, 按上述色谱条件测定苦参碱峰面积, 结果其 RSD 为 0.84%,

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批参柏胶囊 (080301), 按 2.2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 进样, 测定苦参碱含量, 结果 RSD 为 1.72%。

2.2.8 回收率试验 采用加样回收法。取已测含量的参柏胶囊 (13.54 mg·g⁻¹) 约 0.07 g 共 6 份, 精密称定, 分别加入不同量的苦参碱对照品, 按 2.2.3 项下方法制备样品, 进样, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 苦参碱加样回收率试验

称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.068 7	0.930 2	0.761 6	1.698 5	100.9		
0.070 2	0.950 5	0.761 6	1.678 2	95.5		
0.070 8	0.958 6	0.952 0	1.939 5	103.0		
0.069 1	0.935 6	0.952 0	1.881 4	99.3	98.6	3.1
0.071 3	0.965 4	1.142 4	2.051 6	95.1		
0.072 4	0.980 3	1.142 4	2.098 7	97.9		

2.2.9 样品测定 取 3 批参柏胶囊, 按 2.2.3 项下方法制备样品, 按上述色谱条件进样 10 μL, 测定苦参碱质量分数, 结果为 13.54, 13.26, 13.87 mg·g⁻¹。

3 讨论

苦参碱属于 喹里西 类生物碱, 其溶解性比较特殊, 既可溶于水, 又能溶于氯仿、乙醚等亲脂性溶剂。曾以碱性三氯甲烷、水为溶媒对供试品进行

提取分离, 结果碱性三氯甲烷提取的样品杂质多, 液相色谱峰分不开, 而以水为溶媒, 色谱峰得到较好的分离, 且提取量高; 考察了超声 30, 45, 60 min 提取量的区别, 结果超声 30 min 已可将苦参碱提取完全。用水提取后, 色谱峰已分离良好, 但为减少柱污染, 考虑除去水溶性杂质, 用碱性三氯甲烷萃取, 结果萃取后苦参碱比萃取前损失 50% 以上, 可见由于苦参碱在水和三氯甲烷中溶解性均较好, 无法被三氯甲烷完全萃取, 故供试品溶液的制备确定为以蒸馏水超声 30 min。

HPLC 法分析生物碱时, 最易发生拖尾、峰漂移的问题, 文献报道^[1-3] 苦参碱的 HPLC 测定时, 多用氨基柱, 以避免碱性氮原子与 ODS 柱键合硅胶中未键合酸性硅醇基的相互作用, 我们采用普通 C₁₈ 柱, 筛选了以下流动相 (1) 乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (6 4); (2) 甲醇-0.2% 三乙胺水 (5 5); (3) 乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (含 0.2% 三乙胺) (6 4); (4) 甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (含 0.2% 三乙胺) (4 6); (5) 甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (含 0.2% 三乙胺) (5 5); (6) 甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (含 0.2% 三乙胺) (6 4)。通过实验得出以下结论: 流动相必须含三乙胺和磷酸二氢钾; 用乙腈出峰时间太快; 甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (6 4) (含 0.2% 三乙胺) 能使苦参碱色谱峰与其他成分良好的分离。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 141.

[2] 马长华, 曹天海. HPLC 法测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20 (6): 408.

[3] 屠万倩, 李向阳, 张留记. HPLC 测定抗妇炎片中苦参碱的含量 [J]. 中成药, 2006, 28 (7): 1076.