

治带片的定性定量研究

原红霞, 裴妙荣*, 杨素德

(山西中医学院, 山西太原 030024)

[摘要] **目的:**建立治带片的质量控制方法。**方法:**采用薄层色谱法对治带片中的苍术、金樱子进行薄层鉴别,采用高效液相色谱法对治带片中苦参碱和氧化苦参碱进行含量测定。**结果:**薄层色谱中,色谱斑点清晰,阴性无干扰;测得的苦参碱和氧化苦参碱质量分别在 $0.33 \sim 3.3 \mu\text{g}$ ($r=0.9998$)和 $0.038 \sim 0.38 \mu\text{g}$ ($r=0.9999$)时与色谱峰面积之间线性关系良好,二者平均回收率分别为100.4%、101.5%,RSD分别为1.4%、1.5%。**结论:**该方法简便、快速、准确,可作为治带片质量控制的一个有效方法。

[关键词] 治带片;质量标准;薄层鉴别;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)01-0025-03

治带片由墓头回、苦参、金樱子、苍术(炒)、知母(盐炒)5味中药组成。具有清利湿热、止带的作用。用于湿热下注、赤带、白带、黄带。关于治带片的质量控制方面已有报道^[1-3],但为了更好的控制产品质量,保证临床用药的安全有效,本文不仅采用高效液相色谱法对治带片中苦参碱和氧化苦参碱的

含量进行了同时测定,而且对该药中的苍术、金樱子进行了薄层鉴别。

1 仪器与试剂

Waters 2690 高效液相自动进样色谱仪;2998 二极管阵列检测器;M32 色谱工作站。

乙腈、无水乙醇均为色谱纯,其它试剂为分析纯,苦参碱对照品,氧化苦参碱对照品(含量测定用,批号为110805-200306,0780-200004),苍术对照药材,金樱子对照药材(批号分别为120932-200405,121047-200302)均购自中国药品生物制品检定所。

[收稿日期] 2009-06-30

[通讯作者] *裴妙荣, Tel: (0351)2272180; E-mail: peimr602@163.com.

治带片由中晋药业提供(批号分别为080706, 080710-080712)。

2 薄层鉴别方法

2.1 苍术的鉴别 取本品10片,除去包衣,研碎,称取1.75 g,置锥形瓶中,加正丁醇25 mL,超声处理30 min后,过滤,滤液挥发至约1 mL左右,转入1 mL的量瓶中,定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液;再按处方比例,取缺苍术的其他各味药,按制备工艺加工制成阴性样品,同供试品制备方法制成阴性对照溶液;另取苍术对照药材粉末1 g,同法制成苍术对照药材溶液。

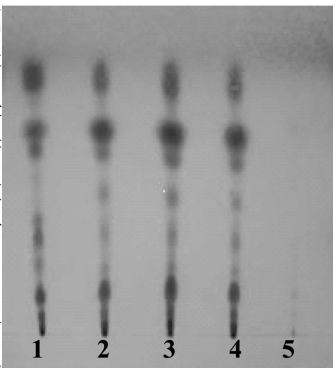


图1 苍术薄层层析图

1~3为样品;4. 苍术对照药材;
5. 苍术阴性对照

吸取上述溶液各5 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯(20:1)为展开剂,展开,取出晾干,喷以5%对甲氨基苯甲醛溶液,70 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,日光下检视。在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点。见图1。

2.2 金樱子的鉴别

取本品10片,除去包衣,研碎,称取3.5 g,放入锥形瓶中,加乙醇30 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水20 mL使溶解,用石油醚洗涤2次,每次20 mL,弃去石油醚液,再用水饱和的正丁醇振摇提取2次,每次20 mL,

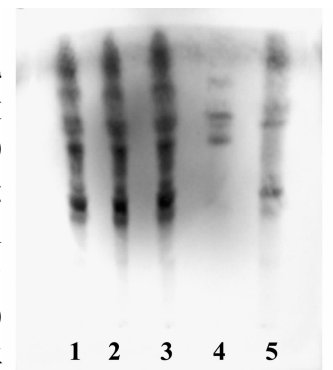


图2 金樱子薄层层析图

1~3为样品;4. 金樱子对照药材;
5. 金樱子阴性对照

加入等体积的氨试液,充分振摇分层,取上层溶液,蒸干,残渣用甲醇溶解,转入1 mL容量瓶中,定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液;再按处方比例,取缺金樱子的其他各味药,按制备工艺加工制成阴性样品,同供试品制备方法制成阴性对照溶液;取粉碎的金樱子对照药材1 g,按以上方法制成金樱子对照药材溶液。分别吸取上述溶液(金樱子药材对照溶液、阴性对照溶液各1 μ L,供试品溶液2 μ L),分别点于同一

硅胶G薄层板上,用氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)展开,取出,晾干,喷以10%的硫酸乙醇溶液显色,105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,日光下检视。见图2。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil NH₂(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-无水乙醇-3%磷酸(84:8:8);流速:1.0 mL \cdot min⁻¹;柱温:30 $^{\circ}$ C;检测波长:210 nm;进样量:15 μ L。

3.2 对照品储备液的制备 取苦参碱对照品约4 mg和氧化苦参碱对照品约2 mg,精密称定,分别置于10 mL容量瓶中,加乙腈-无水乙醇(8:2)溶解氧化苦参碱并稀释至刻度,摇匀,取2.4 mL加入盛有苦参碱的容量瓶中,加乙腈-无水乙醇(8:2)溶解并稀释至刻度,摇匀,作为储备液(含苦参碱438 μ g \cdot mL⁻¹和氧化苦参碱50.88 μ g \cdot mL⁻¹)。

另取苦参碱对照品约10 mg和氧化苦参碱对照品约2 mg,精密称定,分别置于5 mL和10 mL容量瓶中,加氯仿溶解并稀释至刻度,摇匀,作为做回收率时的对照品溶液(含苦参碱1.91 mg \cdot mL⁻¹和氧化苦参碱0.186 mg \cdot mL⁻¹)

3.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,除去包衣,研细,取约0.5 g,精密称定,置25 mL量瓶中,加入浓氨试液0.5 mL,二氯甲烷20 mL,超声处理30 min,放冷,用二氯甲烷调至刻度,摇匀,滤过,取续滤液5 mL,通过中性氧化铝柱(100~200目,5 g,内径1 cm),依此以二氯甲烷、二氯甲烷-甲醇(7:3)各20 mL洗脱,收集洗脱液,回收溶剂至干,残渣加无水乙醇适量使溶解,并转移至5 mL量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,0.45 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液,照上述色谱条件测定,以外标法计算含量。

3.4 系统适用性试验 取供试品溶液15 μ L进样,记录色谱图,苦参碱和氧化苦参碱的保留时间分别为14.4和22.6 min,对称因子均为0.95~1.05,与相邻峰的分度均大于1.5,理论板数按氧化苦参碱计算不低于2 000。

3.5 方法学考察

3.5.1 阴性对照试验 按样品制法,制备缺苦参的阴性对照样品,按“供试品溶液的制备”项下方法操作,制得阴性对照溶液。吸取15 μ L注入液相色谱仪,测定HPLC色谱。结果在苦参碱峰,氧化苦参碱

峰对应的保留时间处无干扰。

3.5.2 线性范围 精密量取储备液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 和 1.0 mL 分别置于 2 mL 量瓶中, 用乙腈-无水乙醇(8: 2) 稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液, 分别吸取上述对照品溶液 15 μL , 注入液相色谱仪, 测定苦参碱、氧化苦参碱的峰面积值。以对照品进样量(μg) 为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得苦参碱和氧化苦参碱回归方程分别为: $Y = 1.53 \times 10^3 X - 5.03 \times 10^3$ ($r = 0.9998$), $Y = 1.35 \times 10^4 X - 2.15 \times 10^4$ ($r = 0.9999$)。苦参碱和氧化苦参碱分别在 0.33 ~ 3.3 μg 和 0.038 ~ 0.38 μg 质量范围内呈良好线性关系。

3.5.2 精密度试验 取上述储备液 0.5 mL, 置 2 mL 量瓶中, 用乙腈-无水乙醇(8: 2) 稀释至刻度, 摇匀, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 测量峰面积, 其相对标准偏差(RSD) 分别为 0.5%, 2.0%, 表明仪器精密度良好。

按“3.3 供试品溶液的制备”项下方法平行制备 6 份供试品(批号: 080706), 测定含量, 苦参碱和氧化苦参碱的平均含量分别为 4.091, 0.645 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其 RSD 均为 1.9%, 表明方法精密度良好。

3.5.3 溶液稳定性考察 取新制备的同一份供试品溶液, 分别在室温放置于 0, 2, 4, 6, 8 h 时进样, 记录色谱图, 测量峰面积, 测得 RSD 分别为 0.5% 和 1.7% ($n = 6$), 结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

3.5.4 方法回收率试验 称取已知含量的治带片样品(批号: 080706) 6 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 每份精密加入苦参碱对照品溶液(1.91 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.6 mL, 氧化苦参碱对照品溶液(0.186 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.8 mL, 按“3.3”项下的方法操作, 在上述色谱条件下进行分析, 计算苦参碱和氧化苦参碱含量, 并根据加入量计算回收率(表 1)。

3.6 样品测定 取 3 批样品, 按“3.3”项下的方法操作, 在上述色谱条件下进样, 精密吸取供试品溶液 15 μL , 以外标法计算苦参碱和氧化苦参碱含量, 结果见表 2。

4 讨论

4.1 色谱条件的选择 参考药典用乙腈-无水乙醇-3% 磷酸作为流动相^[4], 以不同的比例进行考察, 结果表明采用乙腈-无水乙醇-3% 磷酸为 84: 8: 8

表 1 样品中 2 种成分的回收率 ($n = 6$)

成分	取样量 (g)	样品中含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
苦参碱	0.223 6	0.915	1.144	2.090	102.7	100.4	1.4
	0.273 7	1.120	1.144	2.262	99.8		
	0.251 3	1.028	1.144	2.186	101.2		
	0.250 9	1.027	1.144	2.156	98.7		
	0.261 1	1.068	1.144	2.210	99.8		
	0.266 8	1.092	1.144	2.236	100.0		
氧化苦参碱	0.223 6	0.144	0.149	0.293	100.0	101.5	1.5
	0.273 7	0.177	0.149	0.327	100.7		
	0.251 3	0.163	0.149	0.317	103.4		
	0.250 9	0.162	0.149	0.311	100.0		
	0.261 1	0.169	0.149	0.320	101.3		
	0.266 8	0.172	0.149	0.326	103.4		

表 2 样品含量测定结果 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $n = 2$)

批号	苦参碱	氧化苦参碱	总量 ($\text{mg}/\text{片}$)
080710	1.023	0.161	1.184
080711	0.950	0.154	1.104
080712	0.946	0.149	1.095

时所得色谱峰峰形好, 保留时间短, 可达到理想的分离度。检测波长选择 210 nm。

4.2 样品提取溶剂的选择 分别用二氯甲烷和三氯甲烷做溶媒对提取溶剂进行考察, 发现两者的提取效率差异不大。因三氯甲烷毒性比较大, 最后我们选择二氯甲烷作为提取溶剂。

4.3 在样品处理过程中, 考察了二氯甲烷-甲醇(7: 3) 的洗脱体积, 发现洗脱体积为 20 mL 时, 苦参碱和氧化苦参碱洗脱完全。

[参考文献]

- [1] 胡森科, 于燕, 苗江丽. 治带片中苦参碱及氧化苦参碱的 HPLC 法测定[J]. 西安交通大学学报, 2007, 28(3): 343-345.
- [2] 李成网. HPLC 同时测定治带片中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中成药, 2007, 29(2): 307-309.
- [3] 李亚萍, 庄义修, 雷晓林. 治带胶囊的质控方法研究[J]. 淮海医药, 2007, 25(4): 363-364.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 259.