

高效液相色谱法测定艾愈片中苦参碱和氧化苦参碱的含量

陈大中^{1*}, 赵润琴²

(1. 黑龙江中医药大学中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040;
2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 建立以高效液相色谱法同时测定艾愈片中苦参碱和氧化苦参碱含量的方法。方法: 色谱柱: 氨基键合硅胶为填充剂, 流动相: 乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80: 10: 10), 检测波长: $\lambda_s = 220 \text{ nm}$, 流速 $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, 进样量 $20 \mu\text{L}$ 。结果: 苦参碱在(0.063~ 1.012) μg , $r = 0.999 9$, 氧化苦参碱在(0.190~ 3.040) μg , $r = 0.999 7$ 之间, 范围内呈良好的线性关系。平均回收率: 苦参碱和氧化苦参碱为 98.50% (RSD= 1.02%, $n = 5$)。结论: 本方法简便、准确、重复性好, 能同时测定艾愈片中 2 组分的含量。

[关键词] 艾愈片; 苦参碱; 氧化苦参碱; 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(2008)03-0020-02

艾愈片是在原艾愈胶囊的基础上进行的中药改剂型, 具有解毒散结, 补气养血的功能。用于中晚期癌症的辅助治疗以及癌症放疗引起的白细胞减少症属气血两虚。在对原剂型改革的同时, 对原质量标准也进行了提高, 增加了氧化苦参碱的含量测定。建立了以高效液相色谱法同时测定艾愈片中苦参碱和氧化苦参碱含量的方法, 对提高中药制剂质量监控, 完善质量标准体系具有实际应用意义。

1 仪器与试剂

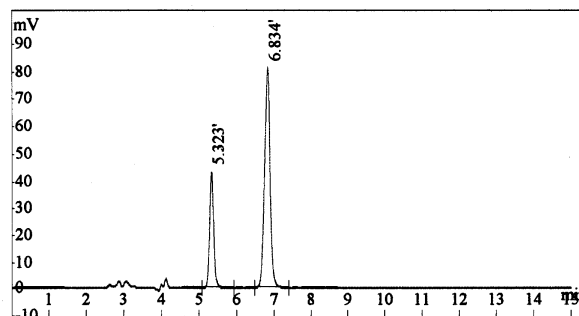
Waters 高效液相色谱仪(Waters 515 泵), Waters 486 紫外检测器, Waters 色谱工作站。

苦参碱(批号: 11805-200306)、氧化苦参碱对照品(批号: 0780-200004)中国生物制品检定所, 艾愈片(自行研制, 批号: 051227)。乙腈为色谱纯, 所用其他试剂均为分析纯。

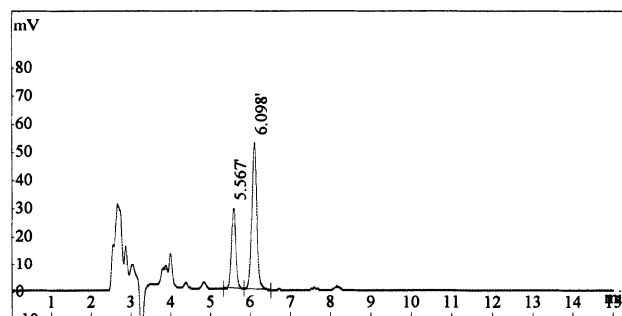
2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1,2] 色谱柱: 氨基(NH₂)键合硅胶柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相: 乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80: 10: 10), 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 。检测波长: $\lambda_s = 220 \text{ nm}$; 进样量 $20 \mu\text{L}$ 。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品苦参碱



苦参碱、氧化苦参碱对照品



样品溶液

2.53 mg 氧化苦参碱 3.80 mg, 分别加入乙腈-无水乙醇(80: 20)使溶解, 制成每 1 mL 含苦参碱 0.126 5 mg 氧化苦参碱 0.380 0 mg 的溶液。

2.3 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mL 分别转移至 10 mL 容量瓶中, 加乙腈-无水乙醇(80: 20)稀释至刻度, 分

[收稿日期] 2007-01-22

[通讯作者] * 陈大中, Tel: (0451) 82608477; E-mail: cd289@126.com

别精密吸取上述溶液各 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 分别以苦参碱、氧化苦参碱峰面积积分值(A_1, A_2)为纵坐标, 进样浓度(C_1, C_2)为横坐标进行线性回归, 得苦参碱回归方程为: $Y = 1.38 \times 10^4 + 5.68 \times 10^5 X$ ($r = 0.9999$), 在(0.063~1.012) μg 之间呈良好的线性关系; 氧化苦参碱回归方程为: $Y = 5.02 \times 10^4 + 6.10 \times 10^5 X$ ($r = 0.9997$), 在(0.190~3.04) μg 之间呈良好的线性关系。

2.4 稳定性试验 取同一批号艾愈片(批号: 051227) 20 片, 除去薄膜衣, 研细, 取粉末 0.5 g, 精密称定, 按“2.8”项下方法操作, 再精密吸取供试品溶液 20 μL , 根据设定间隔时间 0, 1, 2, 3, 4, 5 h, 按“2.1”项下色谱条件进样, 测定峰面积。结果, 苦参碱平均峰面积值为 4.04×10^5 ($RSD = 1.01\%$, $n = 6$); 氧化苦参碱平均峰面积值为 6.36×10^5 ($RSD = 1.04\%$, $n = 6$)。苦参碱和氧化苦参碱在 5 h 之内稳定。

2.5 精密度试验 取同一批号艾愈片(批号: 051227) 20 片, 除去薄膜衣, 研细, 取粉末 0.5 g, 精密称定, 按“2.8”项下方法操作, 再精密吸取供试品溶液 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 每次 20 μL , 测定峰面积, 结果, 苦参碱平均峰面积值为 4.04×10^5 ($RSD = 1.11\%$, $n = 6$); 氧化苦参碱平均峰面积值为 6.35×10^5 ($RSD = 1.14\%$, $n = 6$)。本方法精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号艾愈片(批号: 051227) 20 片, 除去薄膜衣, 研细, 取粉末 0.5 g, 精密称定 6 份, 按“2.8”项下方法操作。再精密吸取供试品溶液 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 计算苦参碱和氧化苦参碱总含量。结果, 苦参碱和氧化苦参碱平均总含量为 $6.43 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($RSD = 1.70\%$, $n = 6$)。重复性较好。

2.7 回收率试验 取同一批号艾愈片(批号: 051227) 20 片, 除去薄膜衣, 研细, 取粉末 0.2 g, 精密称定, 分别加入苦参碱和氧化苦参碱对照品总量 1.01 mg, 混匀, 按“2.8”项下供试品溶液的制备方法操作。精密吸取供试品溶液 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 计算回收率。结果, 苦参碱和氧化苦参碱平均回收率为 98.50% ($RSD = 1.02\%$, $n = 5$)。

2.8 样品含量测定^[3,4] 取艾愈片 20 片, 除去薄膜衣, 研细, 称取粉末 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶

中, 加浓氨试液 1.5 mL, 精密加入三氯甲烷 20 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 33 KHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用三氯甲烷补足损失重量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 通过中性氧化铝柱(100~200 目, 5 g, 内径 1 cm), 依次以三氯甲烷、三氯甲烷-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 10 mL 容量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果($n = 2$)

批号	苦参碱量 (mg)	氧化苦参 碱量(mg)	总含量 (mg)	总含量 (mg/片)
20051227	1.27	2.34	3.61	3.20
20051229	1.29	2.34	3.63	3.16
20060108	1.29	2.34	3.63	3.31

3 讨论

本实验在原标准中单纯测定苦参碱含量的基础上增加了氧化苦参碱的含量测定, 达到更有效地控制成品质量的目的。根据苦参碱和氧化苦参碱光谱图, 二者在 220 nm 处有最大吸收; 色谱柱采用 NH_2 柱对生物碱分离专属性较强; 流动相为: 乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液, 分离效果较好。在试验中考察发现, 流动相中磷酸溶液的用量比例对分离效果会产生很大的影响, 通过对各种乙腈-无水乙醇-磷酸溶液配比比例的考察, 确定出流动相为乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80:10:10), 二者峰形无拖尾现象, 分离度好, 且空白无干扰。可以有效控制制剂质量。

[参考文献]

- [1] 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. 141.
- [2] 田娟, 王智民, 王维皓. HPLC 测定苦参药材中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2): 23-24.
- [3] 蒋珍藕. 苦参碱的提取工艺及测定方法的研究进展[J]. 中医药导报, 2005, 11(8): 90-94.
- [4] 张淑运, 王焯, 何希荣, 等. 苦参药材中生物碱的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 2-4.