

RP-HPLC 法测定抗妇炎泡腾栓中蛇床子素和盐酸小檗碱的含量[△]

张亚洲¹, 骆莉莉¹, 董立莎¹, 蔡少青^{2#} (1. 贵阳中医学院, 贵阳市 550002; 2. 北京大学药学院, 北京市 100083)

中图分类号 R283.623; R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2008)15-1157-03

摘要 目的: 建立以反相高效液相色谱法测定抗妇炎泡腾栓中蛇床子素和盐酸小檗碱含量的方法。方法: 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.2% 磷酸溶液 (52: 48, 每 100 mL 含 0.1 g 十二烷基磺酸钠), 检测波长为 322 nm, 流速为 1 mL · min⁻¹, 柱温为 30 °C。结果: 蛇床子素、盐酸小檗碱进样量分别在 0.019 8~0.396 0 μg ($r = 0.999\ 97$)、0.056 65~1.133 00 μg ($r = 0.999\ 99$) 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系; 平均加样回收率分别为 101.06% ($RSD = 1.10\%$)、101.88% ($RSD = 0.98\%$)。结论: 本方法简便、准确、重现性好, 可用于抗妇炎泡腾栓的质量控制。

关键词 抗妇炎泡腾栓; 反相高效液相色谱法; 蛇床子素; 盐酸小檗碱; 含量测定

Determination of Osthol and Berberine in Kangfuyan Effervescent Suppository by RP-HPLC

ZHANG Ya-zhou, LUO Li-li, DONG Li-sha (Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

CAI Shao-qing (School of Pharmaceutical Sciences, Beijing University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish an HPLC method for determination of the contents of Osthol and Berberine in Kangfuyan effervescent suppository. METHODS: HPLC was carried out on a column of Diamonsil (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphate acid (52: 48, Lauryl sulfonic acid sodium 0.1 g was contained in every 100 mL) with flow rate at 1 mL · min⁻¹. The detection wavelength was set at 322 nm and the column temperature was set at room temperature. RESULTS: The linear range was 0.019 8~0.396 0 μg ($r = 0.999\ 97$) for Osthol versus 0.056 65~1.133 00 μg ($r = 0.999\ 99$) for Berberine. The average recoveries of Osthol and Berberine were 101.06% ($RSD = 1.10\%$) and 101.88% ($RSD = 0.98\%$), respectively. CONCLUSION: This method is simple, accurate and reproducible, and applicable for the quality control of Kangfuyan effervescent suppository.

KEY WORDS Kangfuyan effervescent suppository; RP-HPLC; Osthol; Berberine; Content determination

抗妇炎泡腾栓系由蛇床子、苦参、黄柏等 7 味中药提取物组成的贵州苗族民间验方, 经临床长期应用于治疗妇科炎症, 如细菌性阴道炎、霉菌性阴道炎、滴虫性阴道炎、宫颈糜烂等, 疗效确切^[1]。笔者采用反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 法, 对抗妇炎泡腾栓中主要有效成分蛇床子素和盐酸小檗碱的含量进行了测定^[2-5]。

1 仪器与试剂

1100 型高效液相色谱仪, 包括二极管阵列检测器、1100 型色谱工作站 (美国惠普公司)。蛇床子素对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110822-200406); 盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110713-200208); 乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯; 抗妇炎泡腾栓 (贵州汉方制药有限公司, 批号: 071001、071002、071003)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动

相: 乙腈-0.2% 磷酸溶液 (52: 48, 每 100 mL 含 0.1 g 十二烷基磺酸钠); 检测波长: 322 nm; 流速: 1 mL · min⁻¹; 柱温: 30 °C。理论塔板数按蛇床子素峰计算应不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的配制

2.2.1 蛇床子素对照品溶液的配制: 称取蛇床子素对照品 9.90 mg, 置于 10 mL 容量瓶中, 用无水乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得蛇床子素对照品贮备液。精密量取此贮备液 2 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 (浓度为 79.2 μg · mL⁻¹)。

2.2.2 盐酸小檗碱对照品溶液的配制: 精密称取盐酸小檗碱对照品 14.16 mg, 置于 10 mL 容量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得盐酸小檗碱对照品贮备液。精密量取此贮备液 2 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 (浓度为 113.3 μg · mL⁻¹)。

2.2.3 混合对照品溶液的配制: 精密移取上述 2 种对照品溶液各 4 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 即得。

2.3 供试品溶液的配制

精密称取抗妇炎泡腾栓样品约 0.4 g, 置于 25 mL 量瓶中, 加入适量流动相, 放置 15 min。待发泡完全后, 超声处理 20 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 即得。

2.4 空白试验

△ 贵州省中药现代化科技创新项目 (2006-5011)

硕士研究生。研究方向: 中药内在质量控制及新药研发。E-mail: yazhou_zhang@sina.com

通讯作者: 教授, 博士, 博士研究生导师。研究方向: 中药材的质量控制与应用。电话: 010-82801693。E-mail: sqcai@bjmu.edu.cn

分别取缺蛇床子和黄柏的阴性样品,同“2.3”项下方法配制2种阴性样品溶液。精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液、2种阴性样品溶液及辅料各10 μL,照上述色谱条件进样测定。结果表明,辅料及阴性样品均无干扰。色谱见图1。

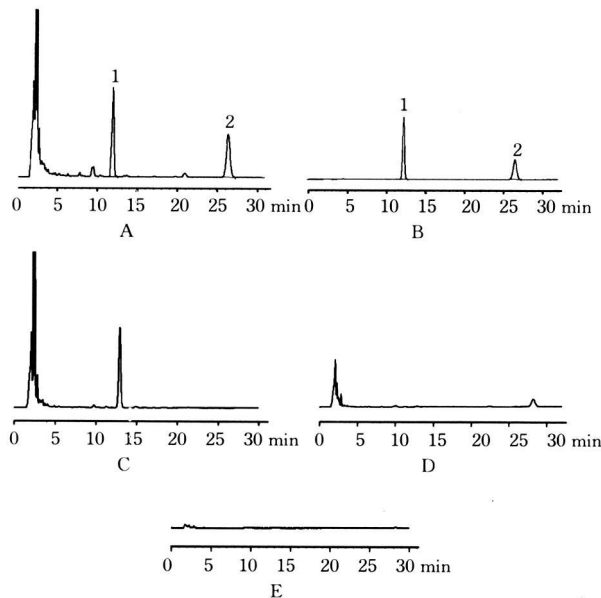


图1 高效液相色谱

A. 供试品; B. 混合对照品; C. 蛇床子阴性样品; D. 黄柏阴性样品; E. 辅料阴性样品; 1. 盐酸小檗碱; 2. 蛇床子素

Fig 1 HPLC

A. sample; B. mixed reference substance; C. negative sample of Osthole; D. negative sample of Cortex Phellodendri; E. negative samples of excipients; 1. berberine; 2. Osthole

2.5 精密度试验

精密吸取蛇床子素对照品溶液(浓度为 $39.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)与盐酸小檗碱对照品溶液(浓度为 $56.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)各1 mL,混合均匀后,精密吸取10 μL,照上述色谱条件重复进样6次,计算。结果,蛇床子素和盐酸小檗碱峰面积的RSD分别为0.39%和0.30%,表明仪器精密度良好。

2.6 重现性试验

精密称取抗妇炎泡腾栓样品约0.4 g,平行6份,置于25 mL容量瓶中,用适量流动相超声20 min溶解,放冷后用流动相稀释至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,精密吸取10 μL,照上述色谱条件进样测定,计算。结果,蛇床子素与盐酸小檗碱平均含量的RSD分别为0.65%($n=6$)和0.41%($n=6$),表明方法重现性良好。

2.7 稳定性试验

取“2.6”项下供试品溶液,照上述色谱条件分别在0、0.5、2、3、4、8 h进样测定。结果,蛇床子素和盐酸小檗碱峰面积的RSD分别为0.31%和0.14%,表明供试品溶液在8 h内基本稳定。

2.8 线性关系考察

2.8.1 蛇床子素标准曲线的绘制:分别吸取蛇床子素对照品溶液(浓度为 $39.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.5、1.0、2.5、3.5、5.0、10.0 mL,置于10 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,注入液相色谱仪,记录色谱图。以进样量(C, ng)对峰面积积分值(A)进行线性回归,得回归方程为 $A = 3.4101C - 1.8289$ ($r =$

0.999 97)。结果表明,蛇床子素进样量在0.019 8~0.396 0 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.8.2 盐酸小檗碱标准曲线的绘制:分别吸取盐酸小檗碱对照品溶液(浓度为 $113.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 mL,置于10 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,分别取10 μL进样,记录色谱图。以进样量(C, ng)对峰面积积分值(A)进行线性回归,得回归方程为 $A = 2.0949C + 2.2782$ ($r = 0.99999$)。结果表明,盐酸小檗碱进样量在0.056 65~1.133 00 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(含盐酸小檗碱0.263 4%、蛇床子素0.122 0%)约200 mg,精密加入盐酸小檗碱对照品溶液(浓度为 $90.64 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 2.40 mL、蛇床子素对照品溶液(浓度为 $31.68 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 3.20 mL,置于25 mL容量瓶中,加适量流动相超声20 min溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过。精密吸取10 μL,照上述色谱条件进样测定,重复6次,计算加样回收率,结果见表1、表2。

表1 盐酸小檗碱的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test of Berberine($n=6$)

称样量 /mg	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	\bar{x} /%	RSD /%
203.8	0.536 8	0.543 8	1.100 4	103.63		
203.4	0.535 8	0.543 8	1.089 4	101.81		
199.8	0.526 2	0.543 8	1.075 6	101.01	101.88	0.98
200.8	0.529 0	0.543 8	1.079 4	101.23		
202.2	0.532 6	0.543 8	1.083 0	101.21		
203.4	0.535 8	0.543 8	1.092 6	102.38		

表2 蛇床子素的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery test of Osthole($n=6$)

称样量 /mg	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	\bar{x} /%	RSD /%
203.8	0.248 5	0.253 4	0.502 6	100.20		
203.4	0.248 2	0.253 4	0.506 4	101.88		
199.8	0.243 8	0.253 4	0.504 6	102.90	101.06	1.10
200.8	0.245 0	0.253 4	0.500 0	100.64		
202.2	0.246 6	0.253 4	0.500 2	100.03		
203.4	0.248 2	0.253 4	0.503 4	100.71		

2.10 样品含量测定

照上述方法,对3批抗妇炎泡腾栓样品分别进行含量测定,结果见表3。

表3 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 3 Results of content determination of samples($n=3$)

样品批号	盐酸小檗碱含量(标示量)/%	蛇床子素含量(标示量)/%
071001	0.287	0.140
071002	0.273	0.137
071003	0.308	0.154

3 讨论

本试验首次同时测定抗妇炎泡腾栓中主要有效成分蛇床子素和盐酸小檗碱的含量,方法简便、准确、重现性好;同时测定主要有效成分指标相当于简化了条件,也更能有效地用于抗妇炎泡腾栓的质量控制。

在进行检测波长的选择时,发现盐酸小檗碱有230、265、350 nm几个不同的吸收带,但蛇床子素仅在322 nm波长处有较大吸收,考虑兼顾二者,故选定322 nm作为共同检测波长,结果符合要求。

通过对不同提取溶剂、提取及超声时间的考察,发现以文

陈香舒胃散质量标准研究

郑奕辉^{1,2}, 周本宏¹, 李 荔², 张寓云², 周泽清² (1. 武汉大学药学院, 武汉市 430072; 2. 汕头大学医学院第二附属医院, 汕头市 515041)

中图分类号 R283.624; R927.1

文献标识码 A

文章编号 1001-0408(2008)15-1159-03

摘要 目的: 建立陈香舒胃散的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对方中大黄进行定性鉴别; 采用反相高效液相色谱法对橙皮苷进行定量分析: 色谱柱为 Luna C₁₈(2) (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-冰醋酸-水(35: 4: 61), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 283 nm。结果: TLC 斑点清晰, 分离度较好。橙皮苷进样量在 0.12~2.40 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r = 0.9999$); 平均加样回收率为 98.0%, $RSD = 0.9\%$ ($n = 9$)。结论: 所建标准可用于陈香舒胃散的质量控制。

关键词 陈香舒胃散; 反相高效液相色谱法; 薄层色谱法; 质量标准

Quality Standard of Chenxiang Shuwei Powder

ZHENG Yi-hui, ZHOU Ben-hong (College of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

ZHENG Yi-hui, LI Li, ZHANG Yu-yun, ZHOU Ze-qing (The Second Affiliated Hospital of Medical College of Shantou University, Shantou 515041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Chenxiang shuwei powder. METHODS: The qualitative analysis of Rhubarb in Chenxiang shuwei powder was carried out using TLC and the quantitative analysis of Hesperidin was carried out using RP-HPLC on a column of Luna C₁₈(2) (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methyl alcohol-acetic acid-aquifer (35: 4: 61) with a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ at a detection wavelength of 283 nm. RESULTS: The TLC spots of Chenxiang shuwei powder were clear with good resolution. The linear range of Hesperidin was 0.12~2.40 μg ($r = 0.9999$). The average recovery was 98.0% ($RSD = 0.9\%$, $n = 9$). CONCLUSION: The established standard is applicable for the quality control of Chenxiang shuwei powder.

KEY WORDS Chenxiang shuwei powder; RP-HPLC; TLC; Quality standard

陈香舒胃散为汕头大学医学院第二附属医院自行研制开发的中西药复方散剂(批准文号: 粤Z20070715), 验方由陈皮、甘草、木香、石菖蒲、大黄、鸡骨香、碱式碳酸铋、碳酸氢钠等组成, 用于治疗慢性胃炎、胃及十二指肠溃疡, 能迅速缓解胃痛、腹胀、胃酸等症状。为了控制该制剂的质量, 笔者采用薄层色谱(TLC)法对方中大黄进行定性鉴别; 采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)法对橙皮苷进行定量分析。

1 仪器与试剂

LC-6A型高效液相色谱仪、C-R4A型色谱数据处理机、AEG-120型电子分析天平(日本岛津公司); 硅胶G(青岛海洋化工厂)。甲醇、乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯, 水为

重蒸馏水; 大黄对照药材由汕头大学医学院第二附属医院药剂科药检室提供和鉴定; 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110756-200210); 橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 721-8601); 陈香舒胃散(汕头大学医学院第二附属医院自制, 批号: 20060907、20061209、20070105、20070215、20070316、20070626、20071011); 碱式碳酸铋(广东台山新宁制药厂, 干燥失重0.23%, 含量: 81.95%, 批号: 200607011)。

2 性状

本品为黄棕色粉末, 气香, 味甘, 微涩。

3 鉴别

中流动相为溶剂, 对盐酸小檗碱及蛇床子素提取20 min效果均较好, 且与《中国药典》方法相符或相近。在样品处理过程中, 曾采用文中流动相、无水乙醇和甲醇处理样品, 结果发现用流动相处理样品, 能较好地使蛇床子素和盐酸小檗碱从样品中溶出。在加入溶剂时, 泡腾柱样品易发泡溢出量瓶, 影响定量, 故应先加入少量溶剂放置, 待发泡充分后再超声处理。

参考文献

[1] 徐国钧. 生药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 250.

副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0754-8915671。E-mail: sdfzyh@126.com

[2] 李宝明, 何丽一. 高效液相色谱法测定制霉灭滴胶囊中盐酸小檗碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 128.

[3] 金佩芬, 缪华蓉, 钱亚萍, 等. HPLC法测定清戊丸中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量[J]. 中成药, 2001, 23(1): 24.

[4] 赵绪元, 姚金成, 胡 领, 等. 反相高效液相色谱法测定清开灵注射液中2组分的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(3): 202.

[5] 姚育端, 傅 钰, 蒋 平. 高效液相色谱法测定三七伤药片中3组分的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(3): 206.

(收稿日期: 2007-11-16 修回日期: 2008-03-09)