

HPLC 法测定复方鹿仙草胶囊中氧化苦参碱的含量

★ 朱良辉 陈标 汪军 (江西省药物研究所 南昌 330029)

关键词:高效液相色谱法;复方鹿仙草胶囊;氧化苦参碱

中图分类号:R 284.2 文献标识码:B

氧化苦参碱为复方鹿仙草胶囊起效的有效成分之一。因此,采用 HPLC 法测定成品中氧化苦参碱含量,以控制复方鹿仙草胶囊的质量。

1 仪器与试剂

仪器:P680 HPLC Pump;ASI-100 Automated Sample Injector;UVD170U;Thermo-Best Column Compartment TCC-100;FA1104 型电子天平(感量:0.01 mg,上海精科);FZ102 型微型植物试样粉碎机(河北省黄骅市中兴仪器有限公司)。

试剂:乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

对照品:氧化苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110780-200306,供含量测定用),使用前置硅胶干燥器中干燥至恒重。

2 色谱条件

色谱柱:Alltima C₁₈(5 μ m,4.6 mm $\times$ 250 mm);流动相:乙腈-0.02 mol/L 硫酸铵-十二烷基硫酸钠(36:64:0.62)(用 20% 硫酸溶液调节 pH 至 3.0),流速 1.0 mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C;检测波长:205 nm;进样量:10 μ L。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 取氧化苦参碱对照品约 4 mg,精密称定,置 50 mL 瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含氧化苦参碱 0.08 mg)。

3.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的内容物,研细,取约 0.5 g,精密称定,加浓氨试液 0.1 mL 及三氯甲烷 25 mL,回流提取 30 分钟,冷却,倾出提取液,加少量三氯甲烷洗涤容器两次,合并,滤过,滤液 60 $^{\circ}$ C 水浴蒸干,残渣加 pH 1.0 硫酸水溶液 25 mL 分次溶解,一并转移至分液漏斗中,加浓氨水调节 pH 至 9.0~10.0,加入乙醚 25 mL 萃取三次,乙醚液弃去,所得水液水浴挥至无乙醚味,转移至 25 mL 量瓶中,加 pH 1.0 硫酸水溶液定容至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,即得。

3.3 阴性对照实验 取按处方及工艺制备的不含苦参原药材的样品,按供试品溶液的制备试验,结果在氧化苦参碱的峰位上未出现色谱峰,说明阴性对照无干扰。

3.4 线性关系的考察 精密吸取浓度为 0.145 8 mg/mL 的氧化苦参碱对照品液 2、4、6、8 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取上述五种不同浓度的对照品液 10 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图,测定其峰面积,以峰面积值(A)对进样量(C)进行回归,得标准曲线方程为 $A=21.073C\pm 3.070$, $r=0.9996$ 。结果表明,氧化苦参碱在 0.2916~1.458 μ g 内,样品进样量与峰面积线性关系良好。

3.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液(0.083 6 mg/g)10 μ L,连续进样 5 次,测定峰面积值,结果平均峰面积值 14.939 7, $RSD=0.13\%$,表明该测定方法精密度良好。

3.6 重复性试验 取同一批样品 5 份,按上述的方法分别制备供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,照前述色谱条件测定,结果平均氧化苦参碱含量为 2.732 mg/g, $RSD=0.74\%$ 。表明该法重现性良好。

3.7 回收率试验 精密称取已知含量的复方鹿仙草胶囊(氧化苦参碱含量 2.732 mg/g)适量(约 0.25 g),共 6 份。分别精密加入浓度为 0.161 4 mg/g 氧化苦参碱对照品甲醇液各 4 mL,水浴挥干溶剂,按上述测定方法测定,计算回收率,结果平均回收率为 97.72%, $RSD=1.29\%$ 。

3.8 样品测定实验 按上述测定方法分别测定 10 批样品,结果批号为 20050104~20050115 的 10 批样品平均氧化苦参碱含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)分别为 2.733、2.832、3.020、2.316、2.700、2.792、2.819、2.570、3.073、3.443。

3 讨论

据文献报道^[1],处方中苦参的根、茎、叶和花中共分离出 23 种生物碱。主要有苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、异苦参碱、金雀花碱、臭豆碱等。加上原复方鹿仙草颗粒标准中已经收载采用 HPLC 法测定氧化苦参碱含量的方法,该成分为处方中起效的有效成分之一。因此,仍采用 HPLC 法测定成品中氧化苦参碱含量,以控制复方鹿仙草胶囊的质量。

参考文献

[1]苗抗立,张建中,董颖,等.苦参的化学成分及药理的研究进展[J].天然产物研究与开发,2000,13(2):69~73

(收稿日期:2006-09-13)