

## HPLC 测定苦参配方颗粒中苦参碱与氧化苦参碱含量

王丽聪<sup>1</sup>, 李松<sup>2</sup>

(1. 江阴职业技术学院 化纺系, 江苏 江阴 214405; 2. 江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434)

**摘要:**采用高效液相色谱法,以氨基键合硅胶为填充剂,以乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10)为流动相,检测波长为220 nm,建立了一种可同时测定苦参配方颗粒中苦参碱与氧化苦参碱含量的方法。结果表明:苦参碱回归方程为 $Y=499.412 2X-8.070 1$ , $R=0.999 9$ ,线性范围为0.158~1.580  $\mu\text{g}$ 。氧化苦参碱回归方程为 $Y=557.152 4X-15.568 8$ , $R=0.999 9$ ,线性范围为0.168 6~1.686 0  $\mu\text{g}$ 。苦参配方颗粒中苦参碱和氧化苦参碱的总量的平均含量为4.60%,回收率在98%~103%之间,RSD为1.52%。

**关键词:**苦参配方颗粒; HPLC; 苦参碱; 氧化苦参碱

**中图分类号:**TQ464.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-5322(2013)01-0048-04

苦参配方颗粒是由单味苦参中药用现代提取方法及制剂新工艺精制而成的配方颗粒,主要有效成分为氧化苦参碱和苦参碱<sup>[1]</sup>。为控制苦参配方颗粒的质量,保证产品均一稳定,本文建立了苦参碱和氧化苦参碱这两种成分的含量测定方法。经实验证明,该法简便快捷,可作为产品的质量

### 1 仪器与试剂

KQ-50B型超声清洗器(昆山超声电子厂)、Agilent1260 高效液相色谱仪; Agilent-G1311C 四元泵; Agilent-G1329B 真空脱气器; Agilent-G1315D 二极管阵列检测器; CHEMSTATION B.04.02 化学工作站。

苦参碱、氧化苦参碱购于中国药品生物制品检定所,供含量测定用。乙腈:色谱纯;水:重蒸馏水;其余试剂均为分析纯。苦参配方颗粒由江阴天江药业有限公司提供。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:Lichrospher-5NH<sub>2</sub>(江苏汉邦科技有限公司,250×4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10),流速1.0

mL/min,柱温:30  $^{\circ}\text{C}$ 。检测波长为220 nm,进样量:10  $\mu\text{L}$ 。理论板数按氧化苦参碱峰计算应不低于2 000。

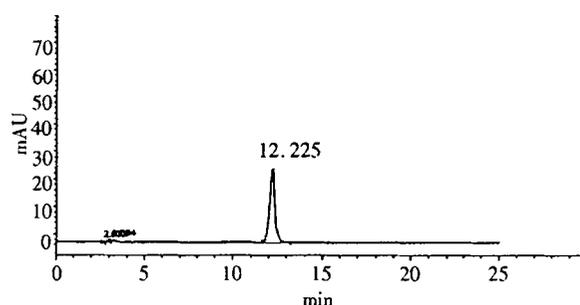


图1 苦参碱对照品的 HPLC 图谱

Fig. 1 Chromatogram of Matrine reference substance

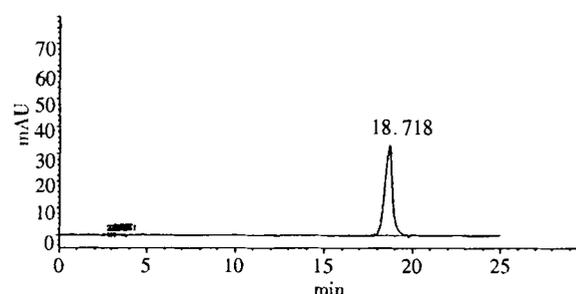


图2 氧化苦参碱对照品的 HPLC 图谱

Fig. 2 Chromatogram of Oxymatrine reference substance

收稿日期:2013-02-11

作者简介:王丽聪(1979-),女,山西汾阳人,讲师,主要研究方向为色谱分析。

## 2.2 溶液的制备

### 2.2.1 对照品溶液的制备

分别取苦参碱、氧化苦参碱对照品适量,精密称定,由乙腈-无水乙醇(80:20)溶液溶解制成每1 mL含0.15 mg的溶液,即得<sup>[2]</sup>。苦参碱与氧化苦参碱对照品图谱见图1和图2。

### 2.2.2 供试品的制备

取苦参配方颗粒(批号:0910105)适量,研细,取约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加浓氨试液0.5 mL,分别精密加入三氯甲烷25 mL,密塞,称定重量,加热回流45 min,放冷,再称定重量,用三氯甲烷补足减失的重量,摇匀,过滤。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,并转移至10 mL量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

### 2.3 线性关系考察

精密吸取苦参碱对照品溶液(0.168 6 mg/mL)1、2、4、6、8 mL,分别置于10 mL的量瓶中,再一一加乙腈-无水乙醇(8:2)混合溶液稀释至刻度,摇匀,配成不同浓度的系列对照品溶液。然后各自精密吸取上述系列对照品溶液各10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,测定,以峰面积积分值为纵坐标,苦参碱进样量( $\mu$ g)为横坐标,绘制标准曲线,结果如表1所示。

表1 回归方程、相关系数和线性范围

Table 1 The regression equations, Linear range and detection limit

组分	回归方程	相关系数	线性范围/ $\mu$ g
苦参碱	$Y=499.4122X-8.0701$	0.9999	1.58~0.15
氧化苦参碱	$Y=557.1524X-15.5688$	0.9999	1.68~0.17

### 2.4 仪器精密度试验

取样品(批号0910105)连续进样5次,上述色谱条件下连续进样5次,每次10  $\mu$ L,以苦参碱峰面积计算,RSD为0.86%。

### 2.5 重现性试验

取同一批样品(批号0910105)6份,精密称定,制备供试品溶液,分别进样10  $\mu$ L,测定峰面积积分值,结果RSD为1.37%。

### 2.6 稳定性试验

取批号0910105样品液,分别于0、2、4、6、8、10 h进行测定,结果党参颗粒中苦参碱和氧化苦参碱峰面积的RSD分别为0.13%和0.39%,表明样品在10 h内稳定。

### 2.7 回收率试验

取已知含量的样品(批号:0910105,含量:42.8 mg/g)适量,研细,取约0.1 g,平行6份,精密称定,分别加入苦参碱对照品溶液(0.474 mg/mL)5 mL、氧化苦参碱(0.337 2 mg/mL)5 mL,制备供试品溶液。结果表明:回收率在98%~103%之间,RSD为1.52%。

### 2.8 样品测定

取3批苦参配方颗粒,按供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液

10  $\mu$ L,分别注入液相色谱仪,测定峰面积积分值,计算即得。结果见表2,色谱图见图3。根据样品测定结果,苦参配方颗粒中苦参碱和氧化苦参碱的总量均大于4.0%。

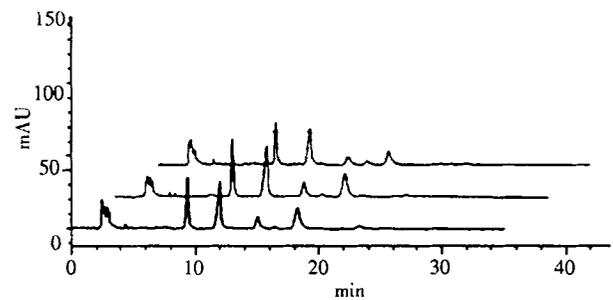


图3 不同批次的苦参配方颗粒的HPLC图谱

Fig.3 Chromatogram of Kushen recipe granules

表2 苦参配方颗粒测定结果(n=3)

Table 2 Result of Kushen recipe granules(n=3)

批号	苦参碱峰面积值	氧化苦参碱峰面积值	苦参碱与氧化苦参碱总量/%
0910105	432.5	386.7	4.02
1005084	876.6	234.3	5.28
1101159	412.8	563.8	4.52

### 3 讨论

#### 3.1 供试品溶液制备的选择

##### 3.1.1 不同提取溶剂用量的考察

本实验比较了不同提取溶剂三氯甲烷用量 15 mL、25 mL、50 mL,结果采用 25 mL 三氯甲烷

作为提取溶剂量,苦参配方颗粒中苦参碱与氧化苦参碱已基本提取完全。

##### 3.1.2 不同提取方式的考察

本实验分别采用超声处理、加热回流 45 min 两种方式提取,发现加热回流比超声处理提取更完全。结果见表 3。

表 3 不同提取方式的比较

Table 3 Comparison of different extraction methods

序号	取样量 g	提取方式	苦参碱峰 面积值	氧化苦参碱峰 面积值	苦参碱与氧化苦参 碱的总量/%
1	0.206 8	超声处理	456.9	510.4	4.50
2	0.205 8	加热回流	505.0	525.2	4.84

#### 3.2 色谱条件的选择

##### 3.2.1 流动相的选择

本实验分别考察了乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(78:10:12)、乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10)、乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(82:10:8)三种不同比例的流动相,结果显示采用乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10)为流动相,样品的分离度好,峰形对称,保留时间也适中,因此选择乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10)进行苦参配方颗粒含量的测定。

##### 3.2.2 柱温的选择

采用 Lichrospher-NH<sub>2</sub>(江苏汉邦科技有限公司,250×4.6 mm,5 μm)色谱柱,选择 25 ℃、30 ℃、35 ℃ 3 种不同柱温下进行实验,结果显示不同的柱温对苦参配方颗粒样品分离均较好,保留时间适中,说明柱温对样品的测定结果影响较小,考察到样品的分析时间以及色谱柱的耐用性,因此选择柱温 30℃ 进行苦参配方颗粒的含量测定。

##### 3.2.3 不同柱流速的选择

本实验分别考察了 0.8 mL/min、1.0 mL/min、1.2 mL/min 3 种流速,结果显示不同的流速对苦参配方颗粒样品分离均较好,说明流速在 0.8~1.2 mL/min 范围内变动不影响检测结果,考察到样品的分析时间长短以及色谱柱的耐用性,因此选择流速 1.0 mL/min 进行苦参配方颗粒的含量测定。

### 4 结论

本文利用高效液相色谱仪对苦参配方颗粒中苦参碱和氧化苦参碱含量进行测定,通过确定高效液相色谱中 3 个参数(不同流动相比例、不同柱温、不同柱流速),对苦参配方颗粒中苦参碱和氧化苦参碱含量测定进行实验,从而得到一个最佳的操作方案,即流动相为乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10),柱温为 30 ℃,流速为 1.0 mL/min,检测波长为 220 nm。

#### 参考文献:

- [1] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2005:354.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. I 部. 北京:化学工业出版社,2010.

## Simultaneous Determination of Alkali and Alkali Oxides in Kushen Recipe Granule with HPLC

WANG Li-cong, LI Song

(1. Department of Chemical Engineering, Jiangyin Polytechnic College, Jiangyin Jiangsu 214405, China;  
2. Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangyin Jiangsu 214434, China)

**Abstract:** Objective: To develop a RP-HPLC method for simultaneous determination of Matrine and Oxymatrine. Methods: Using high performance liquid chromatography, amino-bonded silica gel as a filling agent; Acetonitrile-ethanol-3% phosphate solution (80:10:10) for the mobile phase; Detection wavelength of 220 nm. Results: regression equations for Matrine  $Y = 499.4122X - 8.0701$ ,  $R = 0.9999$ , linear range from 0.158 ~ 1.58  $\mu\text{g}$ . Oxymatrine regression equation for  $Y = 557.1524X - 15.5688$ ,  $R = 0.9999$ , linear range 0.1686 ~ 1.686  $\mu\text{g}$ . Kushen recipe granules of Matrine and Oxymatrine in the total amount of the average content of 4.60%, the recovery rate between in 98% and 103%, RSD of 1.52%. Conclusion: The method could determine Matrine and Oxymatrine in Kushen recipe granule.

**Keywords:** Kushen recipe granules; HPLC; Matrine; Oxymatrine

(责任编辑:沈建新)

(上接第28页)

### 参考文献:

- [1] 袁朝庆, 庞鑫峰, 刘燕. 管道泄漏检测技术现状及展望[J]. 大庆石油学院学报, 2006, 30(2): 76-79.
- [2] 姜晓玉. 声发射信号的激光检测和分析[D]. 南京: 南京理工大学, 2012.
- [3] 张贤达. 现代信号处理[M]. 2版. 北京: 清华大学出版社, 2002.

## AE Signal Detection of Laser and Analysis

JIANG Xiao-yu, XU Zhi-hong

(College of Science, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing Jiangsu 210014, China)

**Abstract:** Leakage signal can be thought as one kind of Acoustic Emission (AE) signal. Leakage feature can be found by acquisition and analysis of this signal. This article proposed a non-contacting method, using laser sensor (also called laser vibration meter) and signal acquisition equipment, to acquire the signal of leakage of a zip-top to simulate the pressure vessel. Short Time Fourier Transform (STFT) of the acquired signal was then conducted to get the feature of the leakage signal. Experiment results show that it is feasible to detect leakage of pressure vessel using Laser sensor.

**Keywords:** pressure vessels; Acoustic Emission (AE); Laser sensor; contactless detection; Short Time Fourier Transform (STFT)

(责任编辑:张振华)