

HPLC法同时测定复方黄松洗液中盐酸小檗碱和醋酸氯己定的含量

黄铁花*, 胡松#, 张耕(武汉市第一医院药学部, 武汉 430022)

中图分类号 R283.61;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)39-3709-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.39.21

摘要 目的:建立同时测定复方黄松洗液中盐酸小檗碱和醋酸氯己定含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液(40:60, V/V)(每100 ml混合液中加十二烷基磺酸钠0.1 g),检测波长为260 nm,流速为1.0 ml/min。结果:盐酸小檗碱和醋酸氯己定的质量浓度分别在17.65~105.89、51.47~308.82 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(*r*分别为0.999 9、0.999 7);精密性、重复性、稳定性试验的RSD均<2%;平均加样回收率分别为98.52%、97.76%,RSD分别为1.47%、1.21%(*n*均为6)。结论:该方法操作方便、灵敏度高、重复性好,能有效控制复方黄松洗液的质量。

关键词 高效液相色谱法;复方黄松洗液;盐酸小檗碱;醋酸氯己定;含量测定

Content Determination of Berberine Hydrochloride and Chlorhexidine Acetate in Compound Huangsong Lotion by HPLC

HUANG Tie-hua, HU Song, ZHANG Geng(Dept. of Pharmacy, Wuhan First Hospital, Wuhan 430022, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of berberine hydrochloride and chlorhexidine acetate in Compound huangsong lotion. METHODS: HPLC method was adopted. Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used with mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution (40:60, V/V, adding sodium dodecylsulphate 0.1 g in per 100 ml solution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 260 nm. RESULTS: The linear range of berberine hydrochloride and chlorhexidine acetate were 17.65-105.89 μg/ml(*r*=0.999 9) and 51.47-308.82 μg/ml(*r*=0.999 7). RSDs of precision, reproducibility and stability tests were all lower than 2%. Average recoveries were 98.52% (RSD=1.47%, *n*=6) and 97.76% (RSD=1.21%, *n*=6). CONCLUSIONS: The method is convenient, sensitive and reproducible, and it can effectively control the quality of the product.

KEY WORDS HPLC; Compound huangsong lotion; Berberine hydrochloride; Chlorhexidine acetate; Content determination

复方黄松洗液处方由岗松油、大叶桉油、满山香油、蛇床子油、千里光、地肤子、黄柏、醋酸氯己定组成,具有清热利湿、祛风止痒的功效,临床用于治疗湿热下注证,证见阴部瘙痒或灼热痛,带下量多,色黄如脓或赤白相间,或呈黄色泡沫状,以及霉菌性、滴虫性、非特异性阴道炎及外阴炎症见上述者。该产品原质量标准收载于《国家中成药标准汇编》(外科妇科分册)[WS-10889(ZD-0889)-2002],所采用的是气相色谱(GC)法测定其中芳樟醇和桉油精的含量。该制剂属于复方制剂且含有中、西药成分,应当对所加西药成分进行质量控制,且处方中黄柏具有抗菌作用,故笔者采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定了方中盐酸小檗碱和醋酸氯己定的含量^[1],为更加全面有效地控制该制剂的质量提供依据。

1 材料

1.1 仪器

2695型HPLC仪,含2489型紫外检测器、Empower 3型工作站(美国Waters公司);ME215S型电子天平(*d*=0.01 mg,德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

*副主任药师。研究方向:医院药学。电话:027-85332523。E-mail: hth606@163.com

#通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:制剂研发与药事管理。电话:027-85332413。E-mail: huyaoshi@sina.com

复方黄松洗液(商品名:肤阴洁,广西源安堂药业有限公司,批号:201007291B、201103232、201105052);盐酸小檗碱、醋酸氯己定对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110713-200609、110183-200402);乙腈、十二烷基磺酸钠为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.2%磷酸溶液(40:60, V/V)(每100 ml混合液中加十二烷基磺酸钠0.1 g);检测波长:260 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:30℃;进样量:20 μl。理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于3 000,按醋酸氯己定峰计算应不低于2 000。

2.2 供试品溶液的制备

精密量取本品5 ml,置25 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 混合对照品溶液的制备

分别精密称取两种对照品各适量,加流动相制成每1 ml含盐酸小檗碱30 μg、醋酸氯己定100 μg的混合对照品溶液,即得。

2.4 专属性试验

按处方比例和工艺分别制备不含黄柏、醋酸氯己定的阴性样品,再分别按“2.2”项下方法制备阴性对照溶液。取对照

品溶液、供试品溶液、两种阴性对照溶液各适量,分别在上述色谱条件下进样测定,记录色谱图。结果显示,阴性对照在盐酸小檗碱和醋酸氯己定相应保留时间处没有色谱峰出现,表明样品中其他组分对盐酸小檗碱和醋酸氯己定的含量测定无干扰。色谱见图1。

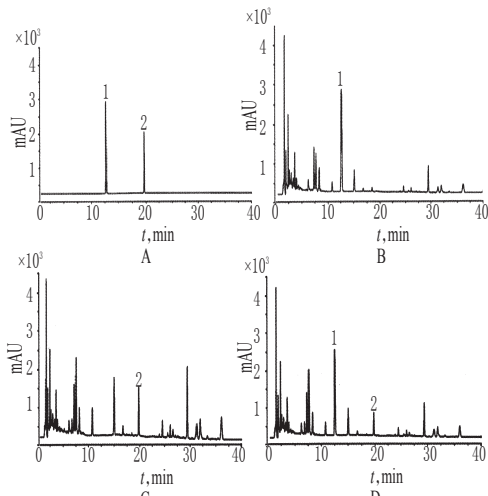


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.醋酸氯己定阴性对照;C.黄柏阴性对照;D.供试品;1.盐酸小檗碱;2.醋酸氯己定

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed control; B.chlorhexidine acetate negative control; C.*Phellodendron chinense* negative control; D.test samples; 1. berberine hydrochloride; 2. chlorhexidine acetate

2.5 线性关系考察

分别精密称取盐酸小檗碱对照品 11.03 mg 和醋酸氯己定对照品 32.17 mg,置同一 25 ml 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,得混合对照品贮备液。分别精密量取该贮备液 1、2、3、4、5、6 ml,置 25 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,取 20 μ l 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以对照品质量浓度(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得盐酸小檗碱的回归方程为 $y=2.14 \times 10^4 x + 1.49 \times 10^3$ ($r=0.9999$, $n=6$),醋酸氯己定的回归方程为 $y=1.85 \times 10^4 x - 2.61 \times 10^3$ ($r=0.9997$, $n=6$)。结果表明,盐酸小檗碱和醋酸氯己定的质量浓度分别在 17.65~105.89、51.47~308.82 μ g/ml 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.6 精密度试验

取混合对照品溶液 20 μ l,按上述色谱条件重复进样 6 次,记录峰面积。结果显示,盐酸小檗碱和醋酸氯己定的 RSD 分别为 0.49%、0.72% (n 均为 6),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取同一批样品(批号:201007291B)制备的供试品溶液适量,分别于 0、2、4、6、8、12 h 按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,盐酸小檗碱和醋酸氯己定的 RSD 分别为 1.38%、1.54% (n 均为 6),表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验

取同一批样品(批号:201007291B)5 ml,精密量取,共 6 份,分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量。结果显示,样品中盐酸小檗碱和醋酸氯己定的平均质量浓度分别为 0.15、0.47 mg/ml,

RSD 分别为 1.25%、1.76% (n 均为 6),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密量取已知质量浓度的同一批样品(批号:201007291B,盐酸小檗碱质量浓度:0.15 mg/ml,醋酸氯己定质量浓度:0.47 mg/ml)5 ml,共 6 份,分别置 50 ml 量瓶中,精密加入盐酸小檗碱对照品溶液(0.523 5 mg/ml)2 ml 和醋酸氯己定对照品溶液(1.982 0 mg/ml)1 ml,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 1 Result of recovery tests ($n=6$)

成分	取样量,ml	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
盐酸小檗碱	5	0.750 0	1.047 0	1.782 1	98.58		
	5	0.750 0	1.047 0	1.818 6	102.06		
	5	0.750 0	1.047 0	1.793 3	99.65	98.52	1.47
	5	0.750 0	1.047 0	1.755 7	96.06		
	5	0.750 0	1.047 0	1.778 2	98.20		
	5	0.750 0	1.047 0	1.760 9	96.55		
醋酸氯己定	5	2.350 0	1.982 0	4.322 1	99.50		
	5	2.350 0	1.982 0	4.268 9	96.82		
	5	2.350 0	1.982 0	4.281 8	97.47	97.76	1.21
	5	2.350 0	1.982 0	4.302 7	98.52		
	5	2.350 0	1.982 0	4.285 4	97.65		
	5	2.350 0	1.982 0	4.264 8	96.61		

2.10 样品含量测定

取 3 批样品各适量,分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品中盐酸小檗碱和醋酸氯己定的含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Result of content determination of samples ($n=3$)

批号	盐酸小檗碱,mg/ml	RSD,%	醋酸氯己定,mg/ml	RSD,%
201007291B	0.15	1.12	0.47	1.42
201103232	0.21	0.88	0.49	1.09
201105052	0.18	1.04	0.51	0.75

3 讨论

盐酸小檗碱在 225、265、243 nm 波长处均有最大吸收^[2],而醋酸氯己定的最大吸收波长在 260 nm 附近^[3-5],故选取 260 nm 作为本试验的检测波长,两种成分均有适宜的灵敏度。

试验中曾经采用乙腈-磷酸盐缓冲液(0.7% 三乙胺溶液,用磷酸调 pH 值至 3.0)^[6]、乙腈-0.2% 磷酸溶液^[7]作流动相,但均不能得到较好的分离度与峰形;后参考《中国药典》黄柏项下方法^[8]在流动相中加入一定量的离子对,可使盐酸小檗碱得到较好的峰形。另外,试验中发现 pH 值对色谱图影响比较明显,故采用流动相稀释对照品与供试品,可以取得更好的效果。

参考文献

- [1] 何伟龙,李薇.RP-HPLC 法同时测定黄柏洁阴液中盐酸小檗碱和醋酸氯己定的含量[J].广西中医学院学报,2010,13(2):47.
- [2] 李艳荣,蒋晔,郝福,等.RP-HPLC 快速测定清胃黄连片中 4 种指标成分的含量[J].中国中药杂志,2007,32(24):2597.
- [3] 王争帅,吴韶铭.高效液相色谱法测定复方替硝唑洗剂中主药的含量[J].药物鉴定,2010,19(4):19.

甜果藤的化学成分研究

赵青*(杭州师范大学附属医院,杭州 310015)

中图分类号 R284.1;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)39-3711-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.39.22

摘要 目的:研究甜果藤的化学成分。方法:采用70%丙酮渗漉提取甜果藤,用反相色谱和硅胶柱色谱对甜果藤水溶性和脂溶性部位进行化学研究,并用化学和波谱数据进行结构鉴定。结果:从甜果藤水溶性和脂溶性部位分离并鉴定出12种化合物,分别为脂溶性部位的蒲公英赛酮(1)、蒲公英赛醇(2)、24R-stigmast-4-烯-3-酮(3)、24R-stigmast-4-烯-3,6-二酮(4)、葡糖苷谷甾醇(5)和水溶性部位的马钱苷酸(6)、番木鳖苷(7)、胍屈嗪(8)、Bis-iridoid(9)、断氧化马钱子苷(10)、狄氏乌檀苷酯(11)、奎诺酸(12)。化合物1~12均为首次从该植物中分离得到。结论:该研究可为甜果藤资源在中成药新品种的创制开发和综合利用等方面提供科学依据。

关键词 甜果藤;化学成分;水溶性部位;脂溶性部位

Study on Chemical Constituents of *Mappianthus iodoides*

ZHAO Qing(The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the chemical constituents of *Mappianthus iodoides*. METHODS: 70% acetone was adopted for percolation and extraction of *M. iodoides*. Water-soluble part and fat-soluble part of *M. iodoides* were studied by RP column chromatography and silica gel chromatography. The structures were elucidated by chemical properties and spectral analysis. RESULTS: 12 compounds were obtained and elucidated from water-soluble part and fat-soluble part of *M. iodoides*, i.g. fat-soluble part including taraxerone(1), taraxerol(2), (24R)-stigmast-4-ene-3-one(3), (24R)-stigmast-4-ene-3,6-dione(4) and β -sitosterol glycoside(5); water-soluble part including loganic acid(6), loganoside(7), depressine(8), bis-iridoid(9), secoxyloganin(10), desoxycordifoline(11) and quinovic acid(12). Compounds 1-12 were all obtained from this plant for the first time. CONCLUSIONS: The trial provides reference for preparation, development and utilization of new TCM products of *M. iodoides*.

KEY WORDS *Mappianthus iodoides*; Chemical components; Water-soluble part; Fat-soluble part

甜果藤为茶茱萸科(Icacinaeae)定心藤属植物定心藤 *Mappianthus iodoides* Hand.-Mazz.的根及藤茎。茶茱萸科植物在全球约有58属、400种,分布于热带地区;在我国有13属、22种,分布于西南部至南部。甜果藤产于我国福建、湖南、广东、海南、广西、贵州、云南等地,功效为活血调经、祛风除湿,主治月经不调、痛经、闭经、产后腹痛、风湿痹痛、腰膝酸痛、黄疸;外用治疗跌打损伤、外伤出血、毒蛇咬伤^[1]。有关甜果藤化学成分的研究少有报道,仅2000年陈承声等^[2]从甜果藤中分得一种倍半萜醇,即(-)-雪松醇。鉴于此,笔者对甜果藤水溶性和脂溶性部位进行了化学成分研究,共分离鉴定出12个化合物。

1 材料

1.1 仪器

UV-2550型紫外光谱(UV)仪(日本 Shimadzu 公司);

Mabna 750型红外光谱(IR)仪(美国 Nicolet 公司);QUATTRO型质谱(MS)仪(美国 Waters 公司);MERCURY300、400型核磁共振(NMR)仪(美国 Varian 公司)。

1.2 试剂

1.2.1 柱色谱填料 Sephadex LH-20(20~80 μ m,北京慧德易科技有限责任公司);TSK-Gel Toyopearl HW-40F(30~60 μ m,意大利 Toso 公司);MCI Gel CHP20P(70~150 μ m,日本三菱化成工业公司);Cosmosil 75 C₁₈-OPN(40~105 μ m,日本 Nacalai Tesque 公司)。

1.2.2 柱色谱硅胶 硅胶G、硅胶H(200~300目,青岛海洋化工厂);薄层色谱(TLC)用硅胶GF₂₅₄(烟台汇友硅胶开发有限公司)。

1.3 药材

- [4] 卢素格,刘红丽,杨瑞春.高效液相色谱法测定皮肤消毒液中醋酸氯己定含量[J].中国消毒学杂志,2011,28(3):317.
- [5] 王玉红.高效液相色谱法测定醋酸氯己定痔疮栓的含量[J].药物鉴定,2010,19(13):39.
- [6] 傅秀娟.HPLC法测定复方岗松洗液中盐酸小檗碱含量

- [J].泸州医学院学报,2008,31(5):512.
- [7] 石军民.RP-HPLC法测定痔宁洗液中盐酸小檗碱的含量[J].中医药导报,2008,14(6):117.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:286.
- (收稿日期:2013-07-22 修回日期:2013-08-19)

* 药师,硕士。研究方向:天然药物化学。电话:0571-88303661。E-mail: 59759003@qq.com