

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.15.025

高效液相色谱法测定四消丸中氢溴酸槟榔碱含量*

杜攀,李培,董清,庞博

(山东省聊城市食品药品检验检测中心,山东 聊城 252000)

摘要:目的 建立测定四消丸中氢溴酸槟榔碱含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Ultimate XB-SCX 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液(55:45, V/V, 浓氨试液调节 pH 至 3.8),检测波长为 215 nm,流速为 10 mL/min,柱温为 30℃,进样量为 10 μL。结果 氢溴酸槟榔碱质量浓度在 10.44~208.80 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好,平均回收率为 93.76%,RSD 为 1.77%(n=6)。结论 该方法简便、测定准确、分离效果好,可用于四消丸的质量控制。

关键词:四消丸;高效液相色谱法;氢溴酸槟榔碱;含量测定

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)15-0090-03

Determination of Arecoline Hydrobromide in Sixiaowan Pills by HPLC

DU Pan, LI Pei, DONG Qing, PANG Bo

(Liaocheng City Food and Drug Inspection and Testing Center, Liaocheng, Shandong, China 252000)

Abstract: Objective To develop a high performance liquid chromatography(HPLC) method for the determination of arecoline hydrobromide in Sixiaowan Pills. **Methods** The chromatographic column was Ultramate XB-SCX column(250 mm×4.6 mm,5 μm),and the mobile phase was acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution(55:45, V/V, adjust the pH of concentrated ammonia test solution to 3.8),the detection wavelength was 215 nm,flow rate was 10 mL/min,column temperature was 30℃,and injection volume was 10 μL. **Results** Arecoline hydrobromide showed good linear relationship in the range of 10.44-208.80 μg/mL with the peak area. The average recovery was 93.76%, RSD was 1.77%(n=6). **Conclusion** This method is simple,accurate,and effective in separation,which can be used for the quality control of Sixiaowan Pills.

Key words: Sixiaowan Pills;high performance liquid chromatography;arecoline hydrobromide;content determination

四消丸由大黄(酒炒)、猪牙皂(炒)、牵牛子(炒)、牵牛子、香附、槟榔、五灵脂(醋炒)组方,具有消水、消痰、消食、消气、导滞通便的功效,用于治疗气食痰水、停积不化、胸脘饱闷、腹胀疼痛、大便秘结。槟榔有效成分氢溴酸槟榔碱可使胃肠平滑肌张力升高,增加肠蠕动,使消化液分泌旺盛,增加食欲^[1],能增强四消丸消食、消气

的药效,因此测定四消丸中氢溴酸槟榔碱的含量具有非常重要的意义。目前执行的四消丸检验标准中无氢溴酸槟榔碱含量测定项,也无槟榔药材的薄层鉴别^[2-3]。在山东省开展的中成药检验专项工作中,发现各生产厂家对四消丸的中药材投料存在差异,甚至存在槟榔未投料的情况。为了更好地进行质量控制,本研究中采用高效

*基金项目:2017年山东省药品质量风险监测项目[鲁食药监药械风(2017)108号]。

第一作者:杜攀,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为药物成分分析,(电话)0635-8535528(电子邮箱)382643649@qq.com。

和企业 A 生产的 11 批复方罗布麻片 I 均检出白麻苷,未检出金丝桃苷。由此推断,企业 A 生产的复方罗布麻片 I 中存在以大花罗布麻叶充当罗布麻叶投料的情况;而企业 B 和企业 C 在生产中不存在掺伪大花罗布麻叶的现象,但其金丝桃苷含量存在较大差异。可见,对复方罗布麻片 I 中的罗布麻叶进行质量控制十分有必要。

3.3 方法评价

本试验中建立的方法简便、快捷,可准确检测复方罗布麻片 I 中罗布麻叶的投料情况,为提高其质量标准提供依据。

参考文献:

[1] 杨晶,夏新华,张雁. HPLC-QAMS 法同时测定复方罗布

麻片 I 中 8 个活性成分的含量[J]. 药物分析,2019,39(8):1433-1442.

[2] 杨玲霞,朱旭江,叶艳芬,等. HPLC 法测定复方罗布麻片 I 中 金丝桃苷的含量[J]. 中国民族民间医药,2015,6:14-15.

[3] 李清艳,乔湜,刘国如,等. 复方罗布麻片 I 中 7 种成分的 UPLC-MS/MS 分段离子切换法测定[J]. 中国医药工业,2016,47(11):1450-1453.

[4] 刘海清. HPLC 测定复方罗布麻片中罗布麻甲素的含量[J]. 中成药,2004,26(5):附 3-附 4.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:211-212.

[6] 韩利文,侯晋军,赵亮,等. 罗布麻叶 HPLC 指纹图谱构建及种属鉴别中的应用[J]. 中草药,2008,39(4):591-594.

(收稿日期:2019-11-12;修回日期:2020-02-20)

液相色谱(HPLC)法^[4-8]对5个厂家9批四消丸中的氢溴酸槟榔碱含量进行测定。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1200SL型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);BT125D型双量程电子分析天平(北京Sartorius公司,精度为0.1 mg);pHS-3C型精密pH计(上海雷磁仪器厂);微孔滤膜(0.22 μm ,美国津腾公司)。

1.2 试药

四消丸(山东孔圣堂制药有限公司,批号分别为1703088,1702035,1701074;河南明善堂药业有限公司,批号分别为170402,170105;河南康华药业股份有限公司,批号分别为17010101,17010302;山西华康药业股份有限公司,批号为20170204;河南润弘本草制药有限公司,批号为170403)。氢溴酸槟榔碱(中国食品药品检定研究院,批号为111684-201602,供含量测定用,纯度为99.8%)。乙腈(瑞典Oceanpak公司,批号为16100115G001,纯度不低于99.9%);乙醚(国药集团化学试剂有限公司,批号为20160419,纯度不低于99.7%);磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号为20170313,纯度不低于85%);氨水(莱阳经济技术开发区精细化工厂,批号为20150528,纯度为25%~28%);碳酸钠(天津市大茂化学试剂厂,批号为20160217,纯度大于99%);碳酸氢钠(天津市大茂化学试剂厂,批号为20160830,纯度大于99%);均为分析纯。自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate XB-SCX柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-磷酸溶液(2 $\rightarrow$ 1 000,浓氨试液调节pH至3.8,55:45, V/V);检测波长:215 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μL ^[9-12]。

2.2 溶液制备

取氢溴酸槟榔碱对照品适量,精密称定,加流动相

制成质量浓度为0.1 mg/mL的溶液,即得对照品溶液。取样品粉末约0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加乙醚50 mL,再加碳酸盐缓冲液3 mL,放置30 min,时时振摇,加热回流30 min,分取乙醚液,加入盛有磷酸溶液(5 $\rightarrow$ 1 000)1 mL的蒸发皿中;残渣加乙醚,加热回流提取2次(30 mL,20 mL),每次15 min,合并乙醚液,置同一蒸发皿中,挥去乙醚,残渣加50%乙腈溶液溶解,转移至25 mL容量瓶中,加50%乙腈至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

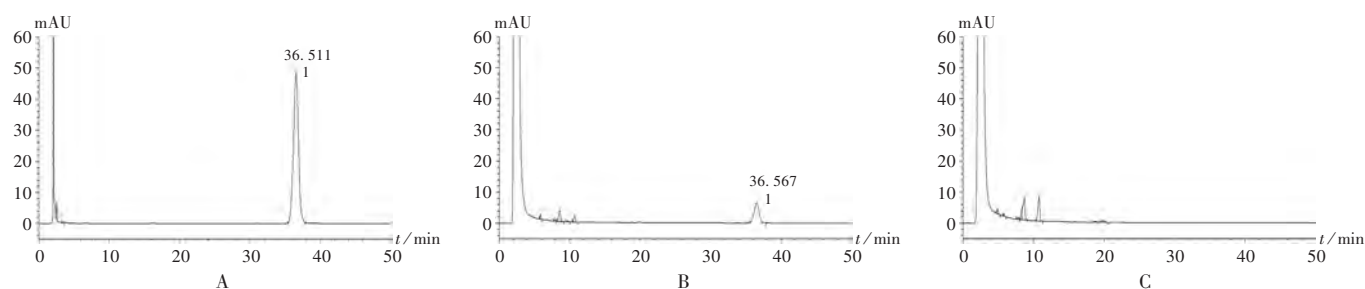
2.3 方法学考察

专属性试验:按处方比例,称取不含槟榔的其余药材,按处方工艺制成细粉,过5号筛^[13],取2.072 g,作为阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液,依法进样测定。结果在对照品溶液色谱氢溴酸槟榔碱($RT=36.5$)位置,供试品溶液和阳性对照品溶液均检出相应色谱峰,而阴性对照无干扰。色谱图见图1,表明方法专属性较好。

线性关系考察:取氢溴酸槟榔碱对照品0.01044 g,精密称定,加流动相制成含氢溴酸槟榔碱208.8 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,进行倍比稀释,得208.8,167.04,125.28,104.40,83.52,52.50,20.88,10.44 $\mu\text{g/mL}$ 系列质量浓度的对照品溶液。分别取10 μL ,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,以质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y=23.201X-5.888$ ($R^2=0.9997$)。结果表明,氢溴酸槟榔碱质量浓度在10.44~208.80 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好^[14-15]。

精密度试验:取线性关系考察项下质量浓度为104.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,重复进样5次,每次10 μL ,记录峰面积。结果的 RSD 为0.40%($n=5$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:称取同一批(批号为1703088)样品6份,精密称定,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定。结果含量的 RSD 为1.82%($n=6$),表明方



1. 氢溴酸槟榔碱

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

表1 氢溴酸槟榔碱加样回收试验结果 ($n=6$)

取样量(g)	样品含量(mg/g)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}(\%)$	RSD(%)
3.685 7	0.309 6	0.522 0	0.786 1	91.28	93.76	1.77
3.513 1	0.295 1	0.522 0	0.780 1	92.91		
3.667 8	0.308 1	0.522 0	0.808 5	95.86		
3.694 0	0.310 3	0.522 0	0.807 9	95.33		
3.670 2	0.308 3	0.522 0	0.797 3	93.68		
3.553 6	0.298 5	0.522 0	0.786 6	93.51		

法重复性良好。

稳定性试验:精密吸取重复性试验项下供试品溶液,分别于0,2,6,12,20,24 h时进样测定。结果氢溴酸槟榔碱峰面积积分值的RSD为0.14% ($n=6$),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

加样回收试验:取已知含量的同一批(批号为1703088)样品6份,精密称定,同时精密加入质量浓度为104.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液5 mL,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表1。

2.4 样品含量测定

取5个厂家每个批号的样品各2份,精密称定,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定。结果见表2。

表2 各批样品中氢溴酸槟榔碱含量测定结果

厂家	批号	氢溴酸槟榔碱(mg/g)	$\bar{X}(\text{mg/g})$	RSD(%)
山东孔圣堂制药有限公司	1703088	0.083	0.084	1.81
	1702035	0.081		
	1701074	0.088		
河南明善堂药业有限公司	170402	0.115	0.114	1.87
	170105	0.112		
河南康华药业股份有限公司	17010101	0.171	0.167	1.68
	17010302	0.162		
山西华康药业股份有限公司	20170204	0.074	0.074	
河南润弘本草制药有限公司	170403	0.137	0.137	

2.5 阳性样品含量测定

按处方比例称取各种药材,按工艺方法制成细粉,过5号筛,即得阳性样品。取5份阳性样品,精密称定,依法制备供试品溶液方法制备阳性样品溶液,依法进样测定。结果阳性样品中氢溴酸槟榔碱的平均含量为0.312 mg/g。

3 讨论

本研究中采用HPLC法测定四消丸中氢溴酸槟榔碱的含量,方法简便、准确度高、重复性好,能用于准确检测四消丸中槟榔碱的含量,可用于

控制四消丸的产品质量。由样品含量测定结果可见,目前生产四消丸的厂家普遍存在槟榔投料低于处方规定量的现象,建议建立测定四消丸中氢溴酸槟榔碱含量的HPLC法,增加槟榔药材的薄层色谱鉴别项目,提高药品质量评价标准。

参考文献:

- [1] 周军,陈飞,曲佳,等. HPLC法测定越鞠保和丸中槟榔碱的含量[J]. 天津药学,2017,29(5):26-27.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:365.
- [3] 杨文强,王红程,王文婧,等. 槟榔化学成分研究[J]. 中药材,2012,35(3):400-403.
- [4] 康四和,周锐,聂晶. HPLC法测定小儿消积止咳口服液中心槟榔碱的含量[J]. 中国药师,2011,14(1):65-66.
- [5] 李春燕,张学敏,岳璐,等. HPLC法测定槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的含量[J]. 中医药学报,2018,46(3):21-23.
- [6] 杨华,郭元满,谭泽云,等. HPLC法同时测定四磨汤滴丸中辛弗林、槟榔碱和去甲异波尔定的含量[J]. 中医药导报,2016,22(2):40-43.
- [7] 陆冰,何胜利,陆飞. HPLC法测定调中四消丸中咖啡酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素甲醚、圆柚酮和 α -香附酮[J]. 现代药物与临床,2017,32(7):1188-1191.
- [8] 杨双杰,郭天义,李艳,等. HPLC法测定四消丸中大黄素、大黄酚的含量[J]. 中国药业,2002,11(12):37-38.
- [9] 金德磊. 高效液相色谱法测定氢溴酸槟榔碱的含量[J]. 安徽农业科学,2008,36(34):14841-14842.
- [10] 周绪正,张继瑜,金德磊,等. 氢溴酸槟榔碱片剂的制备及含量测定[J]. 湖北农业科学,2009,48(10):233-235.
- [11] 陈莹,郭伟英. 反相离子对色谱法测定木香槟榔丸中氢溴酸槟榔碱的含量[J]. 中国药房,2011,22(8):87-89.
- [12] 毛春芹,陆兔林,季德,等. 高效液相色谱法测定不同产地大腹皮中槟榔碱的含量[J]. 中国药理学杂志,2013,48(11):909-911.
- [13] 刘谦光,张尊听,库尔班江,等. 高效薄层光密度法测定槟榔四消丸中大黄素的含量[J]. 药物分析杂志,2000,20(1):63-65.
- [14] 李培,潘广洲. 高效液相色谱法测定消食健胃片中熊果酸含量[J]. 中国药业,2014,23(11):36-38.
- [15] 丁野,姚蓉,龙海燕,等. 槟榔药材高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业,2011,20(19):22-23.

(收稿日期:2020-01-06)

本栏目由

重庆药友制药有限责任公司

协办