

提取率(Y)为指标进行 CCD-RSM 法优化,实验设计与结果见表 2~表 3。

采用 Design-Expert 8.0 软件处理数据,有:

直线回归方程为:

$$Y = 1.114620 + 0.025442X_1 + 0.118850X_2 + 0.084780X_3 \quad (r=0.4804, P=0.2285)$$

二元回归方程为:

$$Y = +1.19514 + 0.025442X_1 + 0.11885X_2 + 0.084780X_3 + 0.096278X_1X_2 + 0.00118186X_1X_3 + 0.049057X_2X_3 - 0.069297X_1^2 + 0.00239254X_2^2 - 0.048126X_3^2 \quad (r=0.6160, P=0.7139)$$

多元回归方程为:

$$Y = 1.20 + 0.095X_1 + 0.26X_2 - 0.059X_3 + 0.096X_1X_2 + 0.001182X_1X_3 + 0.049X_2X_3 - 0.017X_1^2 + 0.054X_2^2 + 0.003916X_3^2 - 0.053X_1X_2X_3 - 0.25X_1^2X_2 + 0.25X_1^2X_3 - 0.12X_1X_2^2 - 0.27X_12X_2^2 \quad (r=0.9760, P<0.05)$$

由以上方程可知,多元回归方程的拟合效果最好。采用 OriginPro 8.0 软件绘制三维效应面图,考察 X_1 、 X_2 、 X_3 三个因素对 Y 的影响,如图 1 所示。

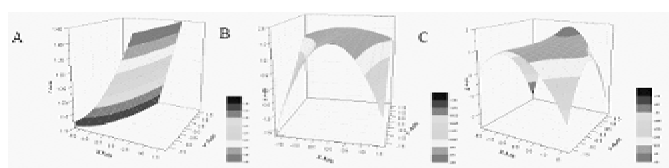


图 1 星点设计-效应面图

2.3 最优工艺验证 由 CCD-RSM 法优选玄参的提取工艺条件为: $X_1 = 18\% \sim 32\%$, $X_2 = 20:1 \sim 26:1$, $X_3 = 30 \sim 48\text{min}$;按优选工艺提取玄参药材 3 批,依 2.1

项下方法测定其总提取率,结果见表 4,数学模型满足预测要求。

表 4 玄参药材总提取率验证结果(n=3)

批次	X_1	X_2	X_3	$Y_{\text{预测}}$	$Y_{\text{实际}}$	偏差
1	32%	26:1	48min	1.53075	1.53037	
2				1.53075	1.53936	1.57%
3				1.53075	1.59461	

3 讨论

目前中药提取工艺优化多采取正交设计或均匀设计法,这两种方法多采用线性数学模型,实验次数较少,精度不高。效应面法系通过描绘效应对考察因素的效应面,从效应面选择较佳的效应区,从而回推自变量取值范围即最佳实验条件的一种研究方法。实验设计可采用星点设计,该方法适用于非线性模型拟合,且具有良好的预测性^[5]。本实验引入星点实验设计方法,结合效应面法优选玄参中哈巴昔与哈巴俄昔的提取工艺,取得了良好的效果。

参考文献

- [1] 胡瑛瑛,黄真.玄参的化学成分及药理作用研究进展[J].浙江中医药大学学报,2008,32(2):268-270.
- [2] 季金玉,张云,从晓东,等.玄参的化学成分及质量控制研究进展[J].中华中医药学刊,2010,28(12):2507-2510.
- [3] 谢丽华,刘洪宇,钱瑞琴,等.哈巴昔与哈巴俄昔对肾虚小鼠免疫功能及血浆环化核苷酸的影响[J].北京大学学报(医学版),2001,33(3):283-284.
- [4] 崔忠生,邸科前,马焕云.哈巴昔及哈巴俄昔对肾上腺素损伤血管内皮细胞的保护作用[J].山东医药,2009,49(25):60-61.
- [5] 吴伟,崔光华,陆彬.实验设计中多指标的优化:星点设计和总评“归一值”的应用[J].中国药理学杂志,2000,35(8):530-533.

(2012-05-24 收稿)

HPLC 法测定肤疾洗剂中苦参碱的含量

张智军¹ 崔 华² 马久太³

(1 陕西省彬县食品药品监督管理局,陕西省彬县西大街老政府院内,713500; 2 陕西摩美得制药有限公司; 3 陕西步长制药有限公司)

摘要 目的:建立肤疾洗剂中苦参碱的含量测定方法。方法:采用 HPLC 法,使用 C_{18} 柱色谱柱,流动相为 $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾- $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠-乙腈(30:30:35),流速 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 220nm。结果:在 $0.515 \sim 5.15\mu\text{g}$ 范围内苦参碱线性关系良好,平均回收率为 98.73%,RSD 为 1.01%。结论:该方法能够对肤疾洗剂中苦参碱进行准确、快速的定量检测。

关键词 HPLC;肤疾洗剂;苦参碱

Determination of the Content of Matrine in Fuji Lotion by HPLC

Zhang Zhijun¹, Cui Hua², Ma Jiutai³

(1 Binxian Food And Drug Administration, 713500; 2 Shanxi Momentum Pharmaceutical Co., LTD, Xianyang; 3 Shanxi Buchang Pharmaceutical Co., LTD, Xi'an)

Abstract Objective: To establish the method for determination of the content of matrine in Fuji Lotion. **Methods:** C_{18} column was used with gradient elution of $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ monobasic potassium phosphate - $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium dodecyl sulfate - acetonitrile (30:30:35) as mobile phase by flow rate of $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, and the detection wavelength was 220nm. **Results:** The calibration curves of matrine was in good linearity over the range of $0.515 \sim 5.15\mu\text{g}$ ($r=0.9999$). The average recovery of matrine was 98.73% ($n=6$, RSD 1.01%). **Conclusion:** The method is accurate and quick for determination of Fuji Lotion.

Key Words HPLC; Fuji Lotion; Matrine

肤疾洗剂由苦参、百部、花椒、白鲜皮、硼砂、雄黄等6味中药组成,具有解毒杀虫、止痒收敛、活血祛瘀的功能,主治疥疮、湿疹、脂溢性皮炎、瘙痒性皮肤病及花斑癣^[1]。为了更好地控制产品质量,我们在其质量标准的基础上,对苦参碱的含量测定方法,进行了方法学研究。报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(岛津 LC-20AD),色谱工作站(岛津 LC-solution),紫外检测器(岛津 SPD-M20A),电子天平(梅特勒-奥豪斯 AR1140)。

1.2 试剂 苦参碱对照品(购于中国药品生物制品检定所,批号 110805-200906),肤疾洗剂(陕西摩美得制药有限公司生产,批号 110305、110307、110309、110311、110313),乙腈为色谱纯,用水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;检测波长 220nm; $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液 - $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠溶液 - 乙腈(30:30:35)为流动相;流速 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;理论塔板数以苦参碱计算应不低于 3000。上述色谱条件下供试品分离度高,阴性无干扰。

2.2 供试品溶液的制备 精密吸取肤疾洗剂 10mL,用稀盐酸调 pH 值至 3~4,以石油醚($60^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$)萃取 3 次,每次 20mL,弃去石油醚液,水层用 0.5% 氢氧化钠溶液调 pH 值至 9~10,用三氯甲烷萃取 3 次,每次 20mL,合并三氯甲烷层,加无水硫酸钠脱水,三氯甲烷液蒸至 3mL,过中性氧化铝柱(100~200 目,10g,内径 1cm),以三氯甲烷 50mL 洗脱,收集洗脱液,回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,转移至 10mL 量瓶中,稀释至刻度,摇匀,微孔滤膜($0.45\mu\text{m}$)滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.3 线性关系考察 精密称取苦参碱对照品 10.30mg,置 10mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得对照品备用液。精密吸取备用液各 0.25mL、0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、2.5mL,置 10mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制得苦参碱对

照品溶液。吸取对照品溶液各 20 μL ,分别注入液相色谱仪,记录峰面积,结果见表 1。

表 1 苦参碱线性关系考察

进样量 C (μg)	0.515	1.03	2.06	3.09	4.12	5.15
峰面积(A)	839979	1659336	3090459	4564346	6058963	7472803

以 C 代表进样量、A 代表峰面积,计算回归方程为 $A = 1427718.13C + 148727.67$, $r = 0.9999$;苦参碱在 $0.515 \sim 5.15\mu\text{g}$ 之间有良好的线性关系,标准曲线见图 1。

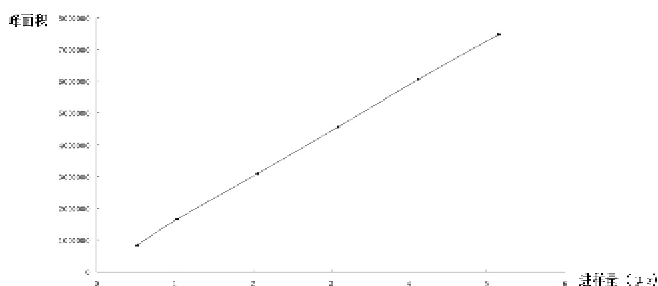


图 1 苦参碱标准曲线

2.4 精密度试验 吸取苦参碱对照品溶液(浓度 $0.103\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 20 μL ,按照上述色谱条件,注入液相色谱仪中,连续进样 6 次,记录峰面积,结果见表 2。

表 2 精密度试验

序号	1	2	3	4	5	6
峰面积	3221431	3186413	3137963	3114164	3170980	3194087
$RSD(\%)$	1.23					

结果表明对照品溶液峰面积 RSD 为 1.23%,本方法精密度良好。

2.5 稳定性试验 取样品(批号 110305),按照上述方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下分别于 0、2、4、8、16h 时注入液相色谱仪中,进样量 10 μL ,记录峰面积,结果见表 3。

表 3 稳定性试验

时间(h)	0	2	4	8	16
峰面积(A)	1812900	1768760	1762048	1754087	1799160
$RSD(\%)$	1.42				

结果表明供试品溶液峰面积在 16h 内 RSD 为 1.42%,本方法稳定性良好。

2.6 重现性试验 精密吸取样品(批号 110305)10mL 5 份,制备供试品溶液,按照上述色谱条件,注入液相色谱仪中,进样量 10 μ L,记录峰面积,结果见表 4。

表 4 重现性试验

序号	1	2	3	4	5
含量($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	0.117	0.115	0.114	0.117	0.114
平均含量($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	0.115				
RSD(%)	1.31				

结果表明样品含量的 RSD 为 1.31%,本方法重现性良好。

2.7 回收率试验 精密吸取样品(批号 110305)10mL 6 份,分别精密加入样品中含量 80%、100% 和 120% 的苦参碱对照品,制备供试品溶液,按照上述色谱条件,注入液相色谱仪中,记录峰面积,结果见表 5。

表 5 回收率试验结果

取样量 (mL)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
10	0.92	2.0601	98.92	98.73	1.01
10	0.92	2.0691	99.90		
10	0.92	2.0509	97.92		
10	1.12	2.2499	98.21		
10	1.12	2.2399	97.31		
10	1.12	2.2603	99.13		
10	1.40	2.5299	98.56		
10	1.40	2.5568	100.49		
10	1.40	2.5236	98.11		

结果表明平均回收率为 98.73%,RSD 为 1.01%,本方法回收率良好。

2.8 样品测定 按照上述方法制备供试品溶液,参照上述色谱条件操作,测定苦参碱含量,结果见表 6。

表 6 肤疾洗剂中苦参碱含量测定

批号	含量($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)		平均含量 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
	X_1	X_2	
110305	0.116	0.114	0.115
110307	0.121	0.118	0.120
110309	0.113	0.117	0.115
110311	0.120	0.123	0.122
110313	0.119	0.121	0.120

药品的质量受药材、生产设备、工艺等多种因素影响,根据 5 批肤疾洗剂的含量测定结果,在其含量平均值 0.118 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的基础上,以 70% 转移率计算,暂定肤疾洗剂中苦参碱含量限度为每 1mL 不得低于 0.08 mg 。

3 结论

肤疾洗剂中的君药苦参,含有多种生物碱,其中苦

参碱、氧化苦参碱具有抗肿瘤、抗炎、抑制皮肤过敏反应等作用^[2]。原质量标准中没有含量测定项目,为了更好地控制产品质量,我们对苦参中的有效成分进行了含量测定。苦参碱含量测定方法有薄层扫描法^[3]、高效液相色谱法^[4]等,本产品采用高效液相色谱法对肤疾洗剂中苦参碱的含量进行了测定,结果表明方法准确、简便、快速,平均回收率为 98.73%,RSD 为 1.01%。

试验中曾考察了苦参碱不同的提取方法^[4-5],结果以萃取提取所得到的苦参碱含量高于蒸干后回流提取法,这与苦参碱遇热不稳定有很大关系。同时由于本品为复方制剂,所含成分复杂,为有效去除杂质,我们采用了萃取加过中性氧化铝小柱方法,排除了干扰。实验中^[4,6-8]曾选用乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10)、甲醇-水-三乙胺(105:95:0.04)、0.016 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾-0.016 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠-乙腈(30:30:35)为流动相,结果前两个条件未能达到满意的分离效果,后者分离度好,阴性无干扰,所以实验最终选用后者为流动相。

在含量测定研究过程中,发现肤疾洗剂中的氧化苦参碱几乎检测不到,可能是氧化苦参碱在药品生产过程中分解或转化为苦参碱,这与文献报到是基本一致的^[3,9-10],所以后期没有对氧化苦参碱进行含量测定的方法学研究。

参考文献

- [1] 肤疾洗剂质量标准(标准编号 WS3-B-2918-98). 中华人民共和国卫生部部颁标准《中药成方制剂》第 15 册[S]. 1998:111.
- [2] 苗抗立,张建中,董颖. 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.
- [3] 贾敏鸽,孙文基. 苦参及其复方中苦参碱与氧化苦参碱的转化研究[J]. 药物分析杂志,2003,23(2):90.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版一部[S]. 化学工业出版社:188-189.
- [5] 赵骏,齐喜红. 生物碱提取方法研究概述[J]. 天津中医学学报,2003,22(4):43-44.
- [6] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:148-149.
- [7] 张蕾,陈晓辉,李娟. RP-HPLC 法测定苦参中苦参碱的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2005,22(1):33-35.
- [8] 蒋珍藕. 苦参碱的提取工艺及测定方法的研究进展[J]. 中医药导报,2005,11(8):90-94.
- [9] 陆蕴如,杨钟利,董育妹. 苦参在复方中化学成分变化的研究[J]. 中国中药杂志,1996,21(7):412.
- [10] 宋小妹,考玉萍. 洁身洗剂中苦参化学成分转化研究[J]. 西北药学杂志,2000,15(6):257.

(2012-04-11 收稿)