

HPLC 法测定湿热痹颗粒(减糖型)中 盐酸小檗碱的含量

罗晶¹,滕怀凤²,施法²

(1.抚顺市药品检验所,辽宁抚顺 113006;2.辽宁省食品药品检验所,辽宁沈阳 110023)

[摘要] 目的:建立高效液相法测定湿热痹颗粒(减糖型)中盐酸小檗碱含量的方法。方法:采用 Diamonsil-C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱;流动相:乙腈-1%磷酸溶液(48:52)(每100 ml中加入十二烷基磺酸钠0.1 g);检测波长:265 nm;流速:1.0 ml/min。结果:盐酸小檗碱在0.010 28-0.411 20 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$),平均回收率为98.30%, $RSD=0.44\%$ 。结论:本方法简便、准确、重现性好,可用于湿热痹颗粒中盐酸小檗碱的质量控制。

[关键词] 湿热痹颗粒;盐酸小檗碱;高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] B

[文章编号] 1673-7210(2010)05(b)-044-02

Content determination of Berberine Hydrochloride in Shirebi Granules by HPLC

LUO Jing¹, TENG Huai Feng², SHI Fa²

(1.Institute for Drug Control of Fushun City, Fushun 113006, China; 2. Institute for food and drug Control of Liaoning Province, Shenyang 110023, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the content determination of berberine hydrochloride in Shirebi Granules by HPLC. **Methods:** The Diamonsil-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phases consisted of acetonitrile and 1%-phosphoric acid (48:52) (to each of 100 ml add 0.1 g of sodium dodecylsulfonate), the flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength was at 265 nm. **Results:** The linear ranges of berberine hydrochloride was at 0.010 28-0.411 20 μg ($r=0.999\ 8$), the average recovery was 98.30% with a RSD of 0.44%. **Conclusion:** The method is fast, reliable, accurate and can be used in the quality control of berberine hydrochloride in Shirebi Granules.

[Key words] HPLC; Berberine hydrochloride; Shirebi Granules; Content determination

湿热痹颗粒为辽宁好护士集团本溪制药有限公司生产的独家品种,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第16册,具有祛风除湿、清热消肿、通络定痛的功效,用于湿热痹证。原标准中质量控制项只有性状、鉴别和检查项,没有含量测定。本实验建立了对处方中黄柏的盐酸小檗碱含量测定方法,有效地控制了药品质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津 LC-2010C HT 高效液相色谱仪;日本岛津 LC Solution 色谱工作站。

1.2 试剂

盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110713-200609);水为二次蒸馏水,其余试剂均为分析纯;湿热痹颗粒由辽宁好护士集团本溪制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每毫升含10 μg的溶液,即得对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液制备 取装量差异项下本品,研细,取约1.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶内,精密加入盐酸-甲醇(1:100)溶液50 ml,密塞,称定重量,超声处理(功率:250 W,频率:

50 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用盐酸-甲醇(1:100)溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 阴性对照液溶液制备 取除黄柏外的其他药材,按所确定的工艺生产阴性样品。其他操作同“2.1.2”项下方法,制成阴性对照液。

2.2 色谱条件

色谱柱:Diamonsil-C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm);检测波长:265 nm;流速:1.0 ml/min;流动相:乙腈-1%磷酸溶液(48:52)(每100毫升中加入十二烷基磺酸钠0.1 g);理论板数按盐酸小檗碱峰计算不低于5 000;按上述色谱条件,取供试液、对照液及阴性液各10 μl,注入高效液相色谱仪,记录色谱图(图1)。结果表明,供试品色谱与对照品色谱具有相同保留时间的色谱峰,阴性样品在此峰位无吸收,无干扰,盐酸小檗碱峰与其他组分峰分离完全。

2.3 线性关系考察

精密称取盐酸小檗碱对照品10.28 mg,置50 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取该溶液5 ml,置100 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。浓度分别为①C₁=0.010 28 mg/ml,②C₂=0.205 60 mg/ml。分别精密吸取溶液①1、2、5、10 μl和溶液②1、2 μl,分别注入液相色谱仪,测定色谱峰面积。以对照品峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,

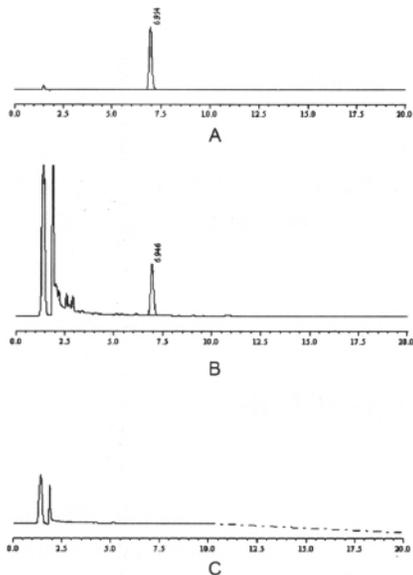


图1 HPLC 色谱图

(A.对照品;B.供试品;C.阴性样品)

Fig.1 HPLC chromatography

(A.Reference substance; B.Sample; C.Negative sample)

绘制标准曲线。结果表明,盐酸小檗碱对照品进样量在0.010 28~0.411 2 μg 范围内呈良好的线性关系。标准曲线方程: $Y=4\ 468\ 143X-8\ 904(r=0.999\ 8)$ 。

2.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μl ,连续进样 5 次,测定色谱峰面积, RSD 为 0.6%,表明本法精密度良好。

2.5 重复性试验

取样品(批号:20060101)6 份,按“2.1.2”项下方法制备样品,并按上述方法测定色谱峰面积,计算得样品中盐酸小檗碱的平均含量为 2.35 mg/袋, RSD 为 1.1%。表明该方法重复性良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液在放置 0、1、2、3、4、5 h 后分别进样 10 μl ,测定色谱峰面积, RSD 为 0.8%,结果表明供试品溶液在 5 h 内基本稳定。

2.7 回收率试验

取已知含量的本品(批号:20060101,含量:0.456 mg/g),精密称取供试品 3 份(0.727 0、0.722 5、0.715 9 g)分别精密加入盐酸小檗碱对照品溶液($C=0.010\ 53\ \text{mg/ml}$)25 ml,再加入盐酸-甲醇(1:100)溶液 25 ml,按“2.1.2”项下“密塞,称定

重量”起制备供试品溶液。按上述色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验

Tab.1 Recovery test

序号	样品含量(mg)	加入量(mg)	实测总量(mg)	回收率(%)	RSD (%)
1	0.331 5	0.258 2	0.584 0	97.78	
2	0.329 5	0.258 2	0.584 2	98.65	0.44
3	0.326 5	0.258 2	0.580 4	98.35	

2.8 样品含量测定

精密吸取供试品溶液 10 μl ,进样测定,计算 3 批样品(批号:20060101、20060102、20060401)中盐酸小檗碱含量分别为 2.3、2.2、2.3 mg/袋。

3 讨论

盐酸小檗碱对照品溶液经 UV-260 紫外分光光度计在 200~400 nm 波长进行扫描,在 229、266、348 nm 处有最大吸收,参照《中国药典》在 265 nm 波长处测定盐酸小檗碱,结果较理想,故选择 265 nm 作为检测波长。

湿热痹颗粒有减糖型和无糖型两种,本实验仅对减糖型做了相关实验,考虑到其制备工艺,无糖型在供试品溶液制备时应适当减量。由于盐酸小檗碱在此流动相系统中保留时间不长,为达到良好的分离效果,建议使用长柱(4.6 mm \times 250 mm),提高柱效。

中药制剂中对盐酸小檗碱的含量测定有过许多报道,但本制剂尚未见文献报道。结果表明本方法阴性对照无干扰,提取方法简单易行,含量测定相对稳定,可以有效地控制该药的质量。

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准组.卫生部药品标准中药成方制剂[S].16 册.北京:中国医药科技出版社,1999:178.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:214.
- [3] 李华,韩丽.HPLC 法测定炎可宁片中盐酸小檗碱[J].中华临床医学研究杂志,2007,13(23):3424.
- [4] 李建勋,张亮,王淑珍.HPLC 法同时测定三黄片中盐酸小檗碱与黄芩苷的含量[J].中国药师,2005,8(6):479.
- [5] 金佩芬,缪华荣.HPLC 测定戊己丸中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量[J].中成药,2001,23(1):24.
- [6] 徐春明.HPLC 法测定盐酸美他环素片的含量[J].药学与临床研究,2008,16(4):121-123.
- [7] 罗阳.高效液相色谱法测定兽用氧氟沙星注射液中氧氟沙星的含量[J].分析仪器,2008,(6):289-290.
- [8] 黎远冬,梁宁生,韦劲松,等.高效液相色谱法测定人体血浆中替加氟的方法研究[J].中国现代应用药学,2007,24(2):145-147.

(收稿日期:2010-01-26)