

HPLC 法测定湿热痹片中盐酸小檗碱的含量

金凤环¹, 段彦杰²

(1. 本溪市化学工业学校, 辽宁本溪 117000; 2. 解放军总医院第二附属医院国际肿瘤治疗中心, 北京 100091)

[摘要] 目的: 建立测定湿热痹片中盐酸小檗碱含量的 HPLC 法。方法: 采用高效液相色谱法对湿热痹片中的盐酸小檗碱进行含量测定, 色谱柱为迪马 Diamonsil(TM) 钻石 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-1%磷酸溶液(48:52, 每 100 毫升中加入十二烷基磺酸钠 0.1 g), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 265 nm, 柱温为 25℃, 进样量为 10 μl。结果: 盐酸小檗碱在 0.018 6~0.372 0 μg 范围内线性关系良好, $r=0.999\ 9$; 平均回收率为 100.14%, RSD 为 1.35%。结论: 本法操作简便、准确、重现性好, 可用于湿热痹片的质量控制。

[关键词] 湿热痹片; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2009)08(b)-052-03

Determination of berberine hydrochloride in Shirebi Tablets by HPLC

JIN Fenghuan¹, DUAN Yanjie²

(1. Benxi Chemical Industry School, Benxi 117000, China; 2. Beijing Greatwall International Cancer Center, the Second Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method to determine berberine hydrochloride in Shirebi Tablets. **Methods:** The contents of berberine hydrochloride were determined in Shirebi Tablets by HPLC. A Diamonsil (TM) C₁₈ chromatographic column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution(48:52) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 265 nm, the column temperature was 25℃ and the sample volume was 10 μl. **Results:** The linear range of berberine hydrochloride was 0.018 6~0.372 0 μg ($r=0.999\ 9$), the average recovery was 100.14% with a RSD of 1.35%. **Conclusion:** The method is easy to operate, and can provide accurate and reproducible results, thus is suitable for the quality control of Shirebi Tablets.

[Key words] Shirebi Tablets; HPLC; Berberine hydrochloride; Determination

湿热痹片由苍术、薏苡仁、地龙、防己、黄柏、粉萆薢、防风等十多种中药材组成, 具有祛风除湿、清热消肿、通络定痛的功效。用于治疗肌肉或关节红肿热痛、有沉重感、步履艰难、发热、口渴不欲饮、小便黄淡等症。其中, 黄柏具有清热燥湿、泻火解毒、退虚热等作用, 为方中要药。本文对该方中盐酸小檗碱进行了含量测定, 报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括 G1379A 在线脱气机、G1313A 自动进样器、G1311A 四元梯度泵、G1316A 柱温箱、G1314A 紫外检测器), 岛津 UV-2401 型紫外分光光度计, 恒温水浴锅, PW 型超纯水制备器, KQ5200 型超声波清洗器(功率 250 W, 频率 33 kHz)。

1.2 试剂

湿热痹片(辽宁好护士集团本溪制药有限公司, 批号为 20060501、20060502、20060503); 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号为 110713-200208, 供含量测定用); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 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

2.1.1 色谱条件 色谱柱为迪马 Diamonsil(TM) 钻石 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-1%磷酸溶液(48:52, 每 100 毫升中加入十二烷基磺酸钠 0.1 g), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 265 nm, 柱温为 25℃, 进样量为 10 μl。参考黄柏

药材(《中国药典》2005 版一部)中盐酸小檗碱的含量测定项, 暂定本试验中理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算不得低于 5 000。

2.1.2 阴性干扰试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μl, 分别注入液相色谱仪, 绘制色谱图。见图 1。由图 1 可见, 在与对照品色谱峰相应的位置上, 供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰, 而阴性对照溶液在此峰处无干扰。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱对照品 9.30 mg, 置 100 ml 容量瓶中, 用盐酸-甲醇(1:100)溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 1 ml 置 10 ml 容量瓶中, 用盐酸-甲醇(1:100)溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成每毫升含盐酸小檗碱 9.3 μg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品(批号为 20060503)20 片, 除去包衣, 研细, 取约 1.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶内, 精密加入盐酸-甲醇(1:100)溶液 50 ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 min, 放冷, 称重, 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。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按工艺方法制备缺黄柏的阴性样品, 并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

分别精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液 2.5、10、20、40 μl 注入高效液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 以进样量为横坐标,

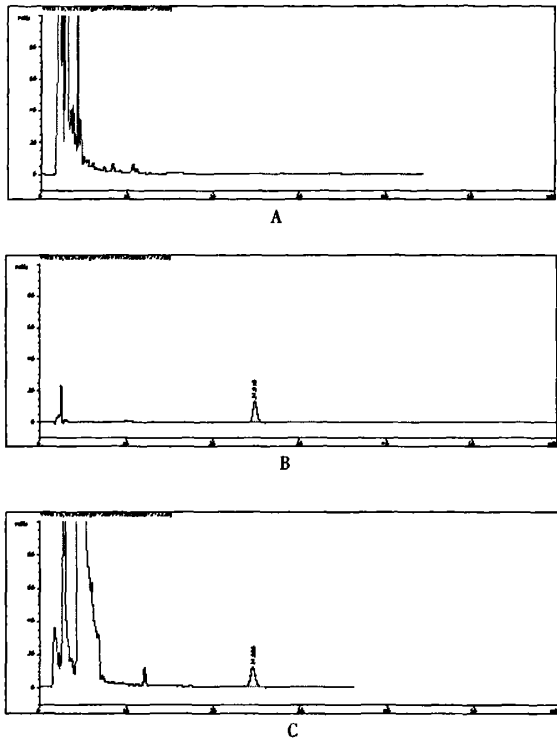


图 1 HPLC 色谱图
(A.阴性对照 B.对照品 C.供试品)
Fig.1 HPLC chromatogram of Shirebi Tablets
(A.Negative control; B.Reference substance; C.Sample)

峰面积为纵坐标绘制标准曲线,经线性回归,得回归方程为 $Y=4\,443.6X-10.53$, $r=0.999\,9$,表明盐酸小檗碱进样量在 $0.018\,6\sim0.372\,0\,\mu\text{g}$ 范围内时,与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品(批号为 20060503)溶液,在室温下放置,按 0、4、8、12、16、24 h 的时间间隔,分别精密吸取 $10\,\mu\text{l}$,注入液相色谱仪,记录峰面积。结果表明,盐酸小檗碱峰面积积分值的 $RSD<2\%$,色谱峰面积无明显变化,表明供试品溶液制备后 24 h 内,待测组分化学性质稳定。

2.5 精密度试验

取“2.2.2”项下供试品溶液,重复进样 6 次,每次 $10\,\mu\text{l}$,记录峰面积,试验结果表明,盐酸小檗碱峰面积积分值的 $RSD<2\%$,色谱峰面积无明显变化,精密度符合规定。

2.6 重复性试验

取本品(批号为 20060503)适量,分成 6 份,分别按“2.2.2”项下方法制备,精密吸取 $10\,\mu\text{l}$,注入液相色谱仪,记录峰面积。结果表明,本法重复性良好($RSD<2\%$)。

2.7 回收率试验

取已知盐酸小檗碱准确含量($0.304\,0\,\text{mg/g}$)的样品(批号为 20060503)6 份,除去包衣,分别研细,各取粉末约 $1\,\text{g}$,精密称定,分别置具塞锥形瓶中,各精密加入含有 $0.279\,\text{mg}$ 盐酸小檗碱对照品的盐酸-甲醇(1:100)溶液 $50\,\text{ml}$ [精密量取浓度为 $0.093\,\text{mg/ml}$ 的盐酸小檗碱对照品溶液 $3\,\text{ml}$,用盐酸-

甲醇(1:100)溶液稀释至 $50\,\text{ml}$],按“2.2.2”项下方法操作。精密吸取本品续滤液各 $10\,\mu\text{l}$,分别注入高效液相色谱仪,记录峰面积。测定结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

Tab.1 The testing results of recovery									
试验号	称样量(g)	相当盐酸小檗碱含量(mg)	加入量(mg)	测得值(mg)	回收量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD	
1	1.013 2	0.308 0	0.279	0.584 1	0.276 1	98.96			
2	0.912 9	0.277 5	0.279	0.554 6	0.277 1	99.32			
3	0.900 6	0.273 8	0.279	0.554 1	0.280 3	100.47	100.14	1.35	
4	1.049 8	0.319 1	0.279	0.605 5	0.286 4	102.65			
5	0.948 7	0.288 4	0.279	0.565 5	0.277 1	99.32			
6	0.902 1	0.274 2	0.279	0.553 6	0.279 4	100.14			

2.8 样品含量测定

按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定 3 批湿热痹片中盐酸小檗碱的含量,测定结果见表 2。

表 2 湿热痹片中盐酸小檗碱的含量测定结果

Tab.2 The results of berberine hydrochloride content in Shirebi Tablets	
批号	含盐酸小檗碱的量(mg/片)
20060501	0.028
20060502	0.052
20060503	0.075

3 讨论

黄柏为湿热痹片的主药,具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效,故以黄柏中盐酸小檗碱作为湿热痹片质量控制的定量指标。本文参考《中国药典》2005 版黄柏含量测定的方法,对其流动相进行适当调整,使盐酸小檗碱分离效果更好。供试品制备参考文献并结合试验,修改为盐酸-甲醇(1:100)超声处理 30 min。本方法简便、灵敏、准确、重复性好,可用于湿热痹片中盐酸小檗碱的含量测定。

3.1 检测波长的选择

取盐酸小檗碱对照品的盐酸-甲醇(1:100)溶液,在 $400\sim200\,\text{nm}$ 波长范围内进行扫描,结果表明,盐酸小檗碱在 $265\,\text{nm}$ 和 $345\,\text{nm}$ 处有最大吸收。参考黄柏药材(《中国药典》2005 版一部)中盐酸小檗碱的含量测定项,选用 $265\,\text{nm}$ 为检测波长。

3.2 流动相的选择

参考文献资料,乙腈-1%磷酸溶液(48:52),即每 100 毫升中加入十二烷基磺酸钠 $0.1\,\text{g}$,比较适合本产品,其分离的盐酸小檗碱峰形良好,分离度较高,且阴性对照无干扰,所以确定流动相为乙腈-1%磷酸溶液(48:52)。

3.3 色谱柱的选择

在色谱柱最低理论塔板数试验中,笔者采用不同色谱柱加以试验,试验条件如前文所述。在此条件下,供试品溶液中盐酸小檗碱与其他组分分离度良好,其保留时间(t_R)、理论塔板数(n)、分离度(R)如下:①迪马 Diamonsil(TM)钻石 C_{18} 柱($4.6\,\text{mm}\times250\,\text{mm},5\,\mu\text{m}$): t_R 为 $30.125\,\text{min}$, n 为 105 44, R 为 3.49。②迪马 kromsil 100A C_{18} 柱($4.6\,\text{mm}\times250\,\text{mm},5\,\mu\text{m}$): t_R

盐酸普鲁卡因注射液快速鉴别

韩璐

(吉林省四平市食品药品检验所, 吉林四平 136000)

[摘要] 目的:为适应市场需求,建立盐酸普鲁卡因注射液快速鉴别方法。方法:采用化学反应和薄层色谱法对盐酸普鲁卡因注射液进行检测。结果:各鉴别反应专属性强、阴性均无干扰。结论:本方法简单、快速,适用于现场打击假劣药品和快速鉴别药品。

[关键词] 盐酸普鲁卡因;快速鉴别;化学反应;薄层色谱

[中图分类号] R927

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2009)08(b)-054-02

Fast identification of Procaine Hydrochloride Injection

HAN Lu

(Siping Institute for Food and Drug Control, Siping 136000, China)

[Abstract] Objective: To establish a fast identification method of Procaine Hydrochloride Injection according to the need of marketplace. **Methods:** Identification of Procaine Hydrochloride Injection was carried out by chemical reaction and TLC.

Results: The identify reactions were specific, and there was no negative interference. **Conclusion:** The methods are simple and fast, which can be used in the fast identification of drugs.

[Key words] Procaine hydrochloride; Fast identification; Chemical reaction; TLC

盐酸普鲁卡因注射液是《中国药典》收载的局麻药品,市场应用广泛。现已收载的检测方法麻烦、费时^[1]。为适应社会需求,更好地提高工作效率,达到即刻控制药品质量的目的,本文建立了该药品的快速检验方法。

1 试剂与试药

盐酸普鲁卡因注射液(天津药业集团新郑股份有限公司,批号为0706081;郑州羚锐制药有限公司,批号为0404111);盐酸普鲁卡因对照品(中国药品生物制品检定所,批号为100424-200301);盐酸氟利嗪对照品(中国药品生物制品检定所,批号为100844-200501);二甲苯、乙醚和浓氨溶液均为分析纯;三硝基苯酚试液按《中国药典》中的规定配制。

2 方法与结果

2.1 化学反应鉴别

2.1.1 试验方法与结果

2.1.1.1 溶液的制备 供试品溶液的制备:直接取样品。对照品溶液的制备:取盐酸普鲁卡因对照品约5 mg,加水1 ml,振摇溶解,即得。空白溶液的制备:以水代替样品。

2.1.1.2 试验步骤 分别取上述3种溶液各1 ml,分别加三硝基苯酚试液3滴,结果显示,供试品溶液与对照品溶液均产生黄色沉淀,而空白溶液无沉淀生成。因此,可用该化学反应检测盐酸普鲁卡因注射液。

2.1.2 反应原理^[4]

2.1.2.1 化学结构 见图1。

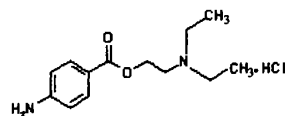


图1 盐酸普鲁卡因的化学结构

2.1.2.2 溶解度 本品在水中易溶,在乙醇中略溶,在三氯甲烷中微溶,在乙醚中几乎不溶。

2.1.2.3 化学反应机制 与三硝基苯酚试液发生生物碱沉淀反应,生成黄色沉淀。

为41.569 min, n 为105.79, R 为3.57。综合分析,本试验采用①中色谱柱。

[参考文献]

- [1] 罗燕梅,焦正花.虎杖通络搽剂质量标准的研究[J].中成药,2005,8(12):35-36
- [2] 国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:214-215.
- [3] 刘腊娥,陈立新,蔡亚敏,等.高效液相色谱法测定肾康口服液中含盐酸小檗碱的含量[J].中国药房,2005,16(2):136-137.
- [4] 程静,何继祥,梅群,等. HPLC 测定结肠炎散中含盐酸小檗碱含量[J].中国药师,2007,10(12):1267-1268.

- [5] 张芳.高效液相色谱法测定黄柏八味胶囊中含盐酸小檗碱的含量[J].中国药业,2008,17(17):28.
- [6] 邓朝晖,陆国军,徐雪峰.HPLC 法测定胃痛宁片中盐酸小檗碱的含量[J].中药材,2008,13(6):927-928.
- [7] 冷桂华.和胃止痛片质量标准研究[J].时珍国医国药,2008,19(3):714-716.
- [8] 许沛虎,许可,曹智华.乳康片质量标准研究[J].医药导报,2008,27(2):225-226.
- [9] 王友新.HPLC 法测定黄连止泻丸中含盐酸小檗碱的含量[J].中国医药导报,2009,6(6):33-34.

(收稿日期:2009-05-12)