RP-HPLC 法测定肛安栓中盐酸小檗碱的含量

高 辉，徐丽华，崔丽华 (山东省药品检验所，济南 250101)

摘要： 目的 采用 RP-HPLC 法测定肛安栓中盐酸小檗碱的含量。方法 色谱柱为 Diamonsil C18；流动相为乙腈-0.05mol·L^{-1} 磷酸二氢钠溶液 (用磷酸调节 pH 值至 3) (30∶70)；检测波长为 270nm。结果 盐酸小檗碱的进样量在 0.16765~0.50294μg 之间与峰面积呈良好的线性关系，r=1.0000，平均加样回收率为 96.62%，RSD=0.80% (n=6)。结论 本方法简便、准确，可用于肛安栓中盐酸小檗碱的含量测定。

关键词： 肛安栓；盐酸小檗碱；HPLC；含量测定

中图分类号：R284；R927.2 文献标识码：A 文章编号：1002-7777 (2011) 09-0927-03

Determination of Berberine Hydrochloride in Gangan Suppositories by RP-HPLC

Gao Hui, Xu Lihua and Cui Lihua(Shandong Institute for Drug Control, Jinan 250101)

ABSTRACT: **Objective** To develop a RP-HPLC method for the assay of berberine hydrochloride in Gangan Suppositories. **Methods** Diamonsil C18 was used with acetonitrile-0.05M sodium hydrogen phosphate(adjusting the pH value to 3 with phosphoric acid)(30∶70) as mobile phase. The detection wavelength was set at 270nm. **Results** The linear range was 0.16765~0.50294μg(r=1.0000). The average recovery was 96.62% and RSD was 0.80%(n=6). **Conclusion** The method is simple and accurate. It can be used for determination of berberine hydrochloride in Gangan Suppositories.

KEY WORDS: Gangan Suppositories; berberine hydrochloride; HPLC; determination

肛安栓是由地榆炭、五倍子、盐酸小檗碱、人工麝香、冰片等 5 味中药组成的复方制剂，具有凉血止血，清热解毒，燥湿敛疮，消肿止痛功效，临床上用于湿热下注所致的内痔、混合痔以及炎性外痔。本品是烟台荣昌制药有限公司独家生产的品种，现行标准为国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS3-129 (Z-129)-2001 (Z)。已有盐酸小檗碱含量测定，其测定方法为硅藻土拌样，硫酸溶液回流提取后，采用紫外-可见分光光度法。该法操作繁琐，受外界干扰因素多，影响结果的准确性。本法以盐酸小檗碱为指标，采用高效液相色谱法测定含量，增加含量测定方法的专属性和准确性，以控制其制剂质量。

1 仪器与试药

Agilent 1200 高效液相色谱仪；Sartorius CP225D 电子天平；盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所，供含量测定用，批号为 110713-200911)。样品和阴性对照 (烟台荣昌制药有限公司，样品批号为 090501、090502、100101)。甲醇、乙腈为色谱纯，水为超纯水，盐酸和磷酸等其他试剂均为分析纯。

2 方法和结果[1-4]

2.1 色谱条件

色谱柱：Diamonsil C18 (250mm×4.6mm，5μm)；流动相：乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 (用磷酸调节 pH 值至 3) (30∶70)，流速：1mL·min^{-1}；进样量：10μL，柱温：35℃；紫外检测器，检测波长：270nm。理论板数以盐酸小檗碱峰计算应不低于 3000，分离度应大于 2.0。

2.2 溶液的制备

对照品溶液的制备：精密称取盐酸小檗碱对照品 10.73mg (含量 86.8%)，置 100mL 量瓶中，加稀乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀，精密量取 3mL，置 10mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇

作者简介：高辉，硕士，主管药师；主要从事中药检验工作；Tel：(0531) 81216523；E-mail：huigao1983@gmail.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

匀，即得（浓度 0.027941mg·mL^{-1}）。

供试品溶液的制备：取重量差异项下的本品，切碎，混匀，取约 0.2g，精密称定，置烧瓶中，精密加入盐酸-甲醇（1∶100）的混合溶液 50mL，称定重量，加热回流并保持沸腾 20 分钟，放冷，再称定重量，用盐酸-甲醇（1∶100）的混合溶液补足减失的重量，摇匀，冷冻 30 分钟，取出，滤过，放至室温，精密量取续滤液 2mL，置 10mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.3 线性关系的考察

分别精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液（浓度为 0.027941mg·mL^{-1}）各 6、9、12、15、18μL，注入液相色谱仪，分别测定峰面积积分值。以对照品进样量为横坐标，以盐酸小檗碱峰面积积分值为纵坐标，进行线性回归，得回归方程：

$Y = 4.3394 \times 10^{3} X - 1.1838 \times 10$　$r = 1.0000$

结果表明，盐酸小檗碱进样量在 0.16765～0.50294μg 之间与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

精密吸取 0.027941mg·mL^{-1}盐酸小檗碱对照品溶液 10μL，注入液相色谱仪，连续进样 6 次，测峰面积，RSD 为 0.10%，表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 10μL，注入液相色谱仪，每隔 2h 进样一次，记录盐酸小檗碱的峰面积，共考察 10h，RSD 为 0.13%，表明被测溶液在 10h 内基本稳定。

2.6 重复性试验

取同一批号的肛安栓约 0.2g，共 6 份，精密称定，按供试品溶液的制备方法制备，按上述色谱条件测定，测得平均含量 34.22mg·g^{-1}，RSD 为 0.64%，表明本品含量测定方法的重复性良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批号（批号 090501，含量 34.22mg·g^{-1}）样品 0.1g，分别精密加入盐酸小檗碱对照品溶液（浓度为 0.027941mg·mL^{-1}）各 10mL，按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件进行测定，计算回收率。平均回收率为 96.62%，RSD 为 0.80%。结果表明测定方法的回收率良好。

2.8 专属性试验

按处方中药味的比例制成缺盐酸小檗碱的阴性对照样品，同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10μL，注入液相色谱仪测定。结果，盐酸小檗碱峰与杂质峰能达到基线分离，阴性对照无干扰。肛安栓样品 HPLC 色谱图见图 1。

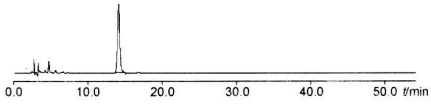

图 1　肛安栓样品 HPLC 色谱图

2.9 样品含量测定

按供试品溶液的制备方法及上述色谱条件对 3 批样品进行测定，结果见表 1。

表 1　样品测定结果　　mg·粒$^{-1}$

样品批号	090501	090502	100101
平均含量	34.6	33.7	33.1

3 讨论

实验过程中考察了超声和回流两种提取方法、不同取样量和提取时间。结果表明，取样 0.2g，盐酸-甲醇（1∶100）的混合溶液 50mL 作为提取溶剂，加热回流并分别保持沸腾 20 分钟提取效果最好，故选之。

根据文献报道[3]，选用乙腈-0.05mol·L^{-1}磷酸二氢钠溶液（用磷酸调节 pH 值至 3）（30∶70）为流动相，色谱柱为 Diamonsil C18（250mm×4.6mm，5μm）对本品进行试验，所得色谱图的分离度好，保留时间较合适。以被测组分盐酸小檗碱峰计算理论塔板数为 9196，考虑到仪器、色谱柱、流动相的配制和温度等系统因素的影响，规定理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 3000。此外使用色谱柱 SHIMADZU VP-ODS（250mm×4.6mm，5μm）按上述确定的方法和条件进行测定，所得的对称因子、理论板数等均能符合 2010 年版药典对高效液相色谱分析的有关要求，说明选择该流动相测定盐酸小檗碱，对色谱柱选择性不强，适用范围广。

HPLC 法测定本制剂中盐酸小檗碱的含量，具有简便，快速，重现性好的特点，为肛安栓制定质量标准提供了实验依据。

参考文献：

[1] 隋艳杰，赵艳，付艳敏，等. HPLC 法测定胃益胶囊中盐酸小檗碱的含量 [J]. 吉林中医药，2009，29（10）：895-896

（下转第 935 页）

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

大图。以此谱段为基础，决定系数 R^2、内部交叉验证均方差（RMSECV）、外部验证均方差（RMSEP）为评价指标，用矢量归一化（Vector normalization）、多元散射校正（MSC）等 5 种常用预处理方法对模型的影响进行考察，见表 2。

表 2 不同光谱预处理方法所得模型的 R^2 RMSECV 及 RMSEP 比较

光谱预处理方法	R^2	RMSECV	RMSEP
一阶导数+矢量归一化	89.66	2.79	3.94
一阶导数+多元散射校正	89.34	2.80	4.00
一阶导数	92.54	2.70	3.34
矢量归一化	95.17	1.66	2.69
多元散射校正	95.19	1.67	2.68

由表 2 可知，以 R^2 越接近 100、RMSECV 和 RMSEP 越小越优来看，用多元散射校正（MSC）预处理方法所得模型其 R^2 最大，并且外部验证均方差最小。因此，最终确定以多元散射校正（MSC）作为预处理方法。

4.2 建模谱段的选择

在确定光谱预处理方法后，结合软件自动优化结果，以决定系数、内部交叉验证均方差（RMSECV）、外部验证均方差（RMSEP）为评价指标，对建模谱段进行优化，最终确定建模谱段为 6102.1~5774.2 cm^{-1}。

4.3 注意事项

在实际检测中应注意：一是测定时近红外检测探头应垂直向下；二是每批样品测定后应将粘有样品的部位清洁干净，以避免交叉干扰；三是取样前应将样品适当振摇均匀。

本文所建的定量模型，在选择建模谱段时参照了文献[2]报道的方法，结果证明该方法减少了计算量和缩短了运算时间，是一个值得学习推广的好方法。另外，模型测定结果与法定方法的结果相对偏差均在 ±5% 以内，适用于快速分析。作者曾将该模型在药品检测车上运用了一段时间，效果较好，达到了一定的初筛目的，较大地缩短了检测时间，提高了监控效能。

参考文献:

[1] 卫生部药品标准 [S]. 抗生素药品，第一册，1989：60-60.

[2] 邓茂刚，刘晓强，许琴瑟，等. 紫外分光光度法测定氯霉素注射液的含量 [J]. 畜牧兽医杂志，2003，22（6）：11-13.

[3] 赵银杰. 紫外分光光度法测定氯霉素注射液的含量 [J]. 中国兽药杂志，2000，34（1）：22-23.

[4] 朱传华，艾春林. 用紫外法控制氯霉素注射液半成品含量 [J]. 黑龙江医药，1995，8（4）：214-215.

[5] 程红杰. HPLC 法测定氯霉素注射液的含量 [J]. 中国现代药物应用，2009，3（18）：29-29.

[6] 杨开金. HPLC 法测定氯霉素注射液的含量 [J]. 安徽医药，2009，13（9）：1048-1050.

[7] 金梅. 氯霉素片含量测定提取方法的改进 [J]. 安徽医药，2004，8（3）：220-220.

[8] 吴美芳. 高效液相色谱法测定氯霉素注射液中氯霉素的含量 [J]. 海峡药学，2007，19（1）：93-93.

[9] 曹宁芳，刘鹏. 高效液相色谱法测定氯霉素注射液的含量 [J]. 西北药学杂志，2007，22（4）：761-761.

[10] 梅素容，王鹏，朱宽正，等. 用液相色谱-串联质谱法测定蜂王浆中氯霉素残留量 [J]. 华中科技大学学报（自然科学版），2006，34（2）：116-116.

[11] 但菊开，朱蕙，张进东. 高效液相色谱法测定氯霉素注射液含量及其有关物质 [J]. 中国医院药学杂志，2004，24（9）：585-586.

[12] 魏京京，吴建敏，张启明. 近红外光谱法测定氯雷他定胶囊含量 [J]. 药物分析杂志，2008，28（11）：1896-1899.

（上接第 928 页）

[2] 饶跃峰，谢先吉，赵青威，等. 复方止血栓中盐酸小檗碱的含量测定 [J]. 中国医院药学杂志，2008，28（3）：245-247.

[3] 陈镇，谈超. 高效液相色谱法测定制痂酊中盐酸小檗碱的含量 [J]. 安徽医学，2009，30（10）：1204-1205.

[4] 孟蕾，沈圣民，张海鸣. 高效液相色谱法测定姜连止泻片中盐酸小檗碱的含量 [J]. 时珍国医国药，2010，21（2）：303-304.

[5] 徐世芳，陈爱瑛，姜丽霞. HPLC 法测定骨质宁搽剂中盐酸小檗碱的含量[J]. 浙江中医药大学学报，2007，31(5)：618-619.

[6] 霍金海，张洪娟，刘凯霍. HPLC 法测定丹槐银屑浓缩丸中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中国中医药科技，2010，17（6）：486-486.

[7] 冯有龙，曹玲，王玉. HPLC 法测定中药中盐酸小檗碱时应注意的问题 [J]. 中国药品标准，2007，8（6）：48-49.

[8] 王克英，方玲芬. 酒黄连中小檗碱 HPLC 含量测定 [J]. 中国中药杂志，2007，32（22）：2443-2444.

[9] 张金安，卢全德. HPLC 法测定清热解毒灌肠液中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中国医院药学杂志，2010，30（13）：1164-1165.

[10] 程静，何继祥，梅群. HPLC 法测定结肠炎散中盐酸小檗碱含量 [J]. 中国药师，2007，10（12）：1267-1268.

[11] 彭素莲. HPLC 法测定复方护肝颗粒中盐酸小檗碱的含量 [J]. 海峡药学，2010，22（1）：61-62.

[12] 周国莉，林晓莲，程聪. HPLC 法测定复方黄连液中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中医药导报，2010，16（8）：80-81.

[13] 袁常青，邢亮. 高效液相法测定黄连中盐酸小檗碱的含量 [J]. 亚太传统医药，2010，6（8）：32-33.

[14] 吕长淮. 盐酸小檗碱含量测定方法概述 [J]. 中国医药导报，2010，7（33）：141-142.

[15] 叶秀金，宋粉云. HPLC 测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17（3）：90-92.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net