

HPLC 法测定香连制剂中盐酸小檗碱、巴马汀和药根碱含量

曾三平, 雷 鹏¹ (湖南省药品检验所, 长沙 410001; ¹ 中南大学湘雅医院)

摘要: 建立香连制剂中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸药根碱含量测定方法。采用高效液相法测定香连片(丸)中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸药根碱含量, 色谱柱: Diamonsil C₁₈; 流动相: 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH 至 3.0) - 乙腈 (70:30); 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 30℃; 检测波长: 345 nm。盐酸小檗碱在 10.2 ~ 510 ng 范围内线性关系良好, $r=0.9997$, 平均回收率为 98.43%, RSD = 2.0%; 盐酸巴马汀在 5.0 ~ 250 ng 范围内线性关系良好, $r=0.9998$, 平均回收率为 98.51%, RSD = 2.4%; 盐酸药根碱在 4.8 ~ 240 ng 范围内线性关系良好, $r=0.9992$, 平均回收率为 97.57%, RSD = 2.7%。该方法简便可行、重复性好, 可更好评价香连片(丸)质量。

关键词: 香连制剂; 高效液相色谱法; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马汀; 盐酸药根碱

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2007) 08-0598-03

Simultaneous Determination of berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and jatrorrhizine hydrochloride in Xianglian pill by HPLC

Ceng Sanping and Lei Peng¹ (Hunan Provincial Institute for Drug Control, Changsha 410001; ¹ Xiang Ya Stomatological College, Central South University)

ABSTRACT The contents of berberine, palmatine and jatrorrhizine in Xianglian pill were determined at the same time. The contents of berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and jatrorrhizine hydrochloride were measured by HPLC. Diamonsil C₁₈ column was used. The mobile phase was composed of acetonitrile and 0.2 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄ (adjust pH = 3.0 with H₃PO₄) at the rate of 30:70 (v/v). The column temperature was set up at 30℃ and the flow rate was 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 345 nm. A good linearity of berberine, palmatine and jatrorrhizine was in the range of 10.2 ~ 510 ng, 5.0 ~ 250 ng and 4.8 ~ 240 ng respectively; the average recovery was 98.43%, 98.51% and 97.57% respectively. The method used here was rapid, sensitive and accurate. The quality control method is convenient, reasonable and credible for Xianglian pill.

KEY WORDS Xianglian pill; HPLC; berberine; palmatine; jatrorrhizine

香连片、香连丸均收载于《中国药典》2005 年版一部, 由莨菪黄连和木香两味药物组成, 并采用薄层扫描法 (TLCS) 测定其盐酸小檗碱的含量^[1], 文献报道^[2-4]对香连片中盐酸小檗碱的含量测定有 TLCS 和 HPLC 等。为更好的控制药品质量, 本文对香连制剂处方中君药黄连所含的 3 种主要生物碱 (盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸药根碱) 同时进行含量测定, 为完善其质量标准提供了可靠的依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪 [G1311A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器、G1315A 二极管阵列检测器 (美国惠普公司)]; AG285 分析天平 (德国梅特勒公司); KS-600D 超声清洗机 (宁波科生仪器厂)。

1.2 试药

盐酸小檗碱 (批号: 0713-9906) 对照品、盐

酸药根碱 (批号: 0733 - 200004) 对照品 (中国药品生物制品检定所), 盐酸巴马汀 (自制, 归一法计算含量大于 98 %)。香连片 (利川香连药业有限责任公司, 批号: 060301, 050501, 050404); 香连丸 (湖北诺得胜制药有限公司, 批号: 051102, 040901); 香连胶囊 (李时珍医药集团有限公司, 批号: 200511010); 阴性样品自制。乙腈 (色谱纯), 其他试剂分析纯, 水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 mm ×250 mm, 5μm); 流动相: 0.2mol · L⁻¹ 磷酸二氢钠 (用磷酸调节 pH 至 3.0) - 乙腈 (70 : 30); 流速: 1 mL · min⁻¹; 检测波长: 345 nm; 柱温: 30 °C; 进样体积: 5 μL。理论塔板数: 按盐酸小檗碱峰、盐酸巴马汀和盐酸药根碱计算均应不低于 4000。

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 20.4 mg、盐酸巴马汀 10.0 mg 和盐酸药根碱 9.6 mg, 加甲醇定容至 100 mL, 制成浓度分别为 0.204、0.100、0.096 mg · mL⁻¹ 的混合对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取香连片 10 片, 精密称定, 碾细, 取粉末约 60 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加盐酸 - 甲醇 (1 : 100) 约 90 mL 超声提取 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 30 min, 放冷, 加盐酸 - 甲醇 (1 : 100) 至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 10 mL 作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取木香药材, 按 2005 版《中国药典》一部香连片制法项下工艺要求制备阴性样品^[1], 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 线性关系的考察

精密吸取上述混合对照品储备液 1、5 mL 分别置 100 mL 量瓶中; 1、3、5 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 分别加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 5μL 进样, 以峰面积对进样量作线性回归, 得各生物碱组分的线性范围和回归方程为

盐酸小檗碱: $C = 0.1941A - 1.0145$, $r = 0.9997$, 线性范围 10.2 ~ 510 ng; 盐酸巴马汀: $C = 0.2894A - 0.5035$, $r = 0.9998$, 线性范围 5.0 ~ 250 ng; 盐酸药根碱: $C = 0.3517A - 1.3980$, $r = 0.9992$, 线性范围 4.8 ~ 240 ng。

2.4 精密度试验

吸取对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 结果盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱峰面积的 RSD 分别为 0.1 %、0.2 %、0.2 %。

2.5 重复性试验

取同一批号样品, 6 份, 按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备并测定, 盐酸小檗碱平均含量为 10.87 mg/片, RSD 为 0.6 %; 盐酸巴马汀平均含量为 1.77 mg/片, RSD 为 0.6 %; 盐酸药根碱平均含量为 3.08 mg/片, RSD 为 1.0 %。

2.6 稳定性考察

取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12 h 进样, 记录色谱图, 结果盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱峰面积的 RSD 分别为 0.6 %, 0.4 %, 1.1 %。表明供试品溶液在 0 ~ 12 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量的香连片 10 片, 精密称定, 碾细, 取 6 份, 每份约 30 mg, 精称, 分别加浓度为 204.0, 40.0, 57.6 μg · mL⁻¹ 的盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱对照品溶液 5 mL, 按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备并测定, 计算, 盐酸小檗碱平均回收率为 98.43 %, RSD 为 2.0 %; 盐酸巴马汀平均回收率为 98.51 %, RSD 为 2.4 %; 盐酸药根碱平均回收率为 97.57 %, RSD 为 2.7 %。

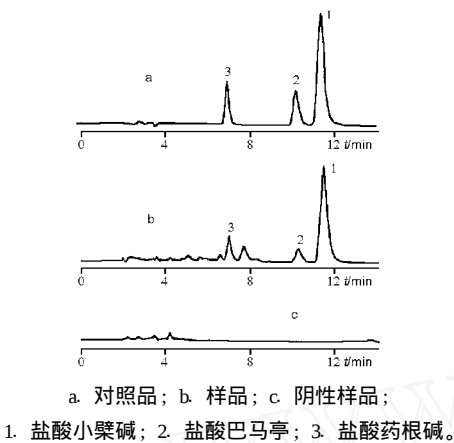
2.8 样品测定

精密吸取对照品溶液与香连制剂供试液各 5 μL, 按上述色谱条件测定, 并计算样品中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱的含量。结果见表 1, 表 2, 表 3; 色谱图见图 1。

表 1 各厂家香连片中各成分含量 mg/片			
编号	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	盐酸药根碱
060301	10.85	1.77	3.06
050501	21.32	1.41	2.14
050404	19.80	1.34	1.60

表 2 各厂家香连丸中各成分含量 mg/支			
编号	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	盐酸药根碱
051102	43.62	3.83	6.46
040901	16.16	14.65	19.37

表 3 各厂家香连胶囊中各成分含量 mg/粒			
编号	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	盐酸药根碱
200511010	39.02	11.77	6.53



a. 对照品; b. 样品; c. 阴性样品;

1. 盐酸小檗碱; 2. 盐酸巴马汀; 3. 盐酸药根碱。

图 1 香连制剂 HPLC 色谱图

3 讨论

3.1 流动相选择

文献报道^[3-6]测定盐酸小檗碱含量所用流动相有多种, 经过反复摸索, 发现用 0.2mol·L⁻¹磷酸二氢钠 (用磷酸调节 pH 至 3.0) - 乙腈 (70/30) 作为流动相, 峰形较好, 出峰时间快。

3.2 提取条件选择

对样品的提取, 比较了水浴回流法、超声提取法, 两者提取效率相似, 但后者操作简单, 故选择超声提取法对样品进行提取。同时考察了不同提取溶剂及超声时间的影响, 超声处理 20 min、30 min, 盐酸小檗碱等生物碱含量有 20% 的差异, 超声处理 30 min、40min, 盐酸小檗碱等生物碱含

量无差异, 故确定超声提取时间为 30 min。对同一批香连片分别用无水乙醇、甲醇、盐酸 - 甲醇 (1/100) 作为提取溶剂制备供试品溶液, 测定盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱含量。结果, 无水乙醇: 盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱含量分别为 10.01 mg/片、1.37 mg/片、2.71 mg/片; 甲醇: 盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱含量分别为 10.22 mg/片、1.41 mg/片、2.76 mg/片; 盐酸 - 甲醇 (1/100): 盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱含量分别为 10.87 mg/片、1.77 mg/片、3.08 mg/片。根据上述结果, 最终选定提取条件为: 盐酸 - 甲醇 (1/100) 作为提取溶剂, 超声提取 30 min。

参考文献:

[1] 中和国药典 [S]. 一部, 2005: 521
[2] 甄汉深, 张丽梅, 陈 勇, 等. 香连片中小檗碱含量测定的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1995, 1 (2): 17
[3] 高美英, 游贵君. 反相高效液相色谱法测定香连片中盐酸小檗碱的含量 [J]. 福建中医药, 2003, 34 (4): 39
[4] 吴建龙, 简炎林. 高效液相色谱法测定香连片中小檗碱的含量 [J]. 广东药学, 2004, 14 (4): 14
[5] 喻 萍, 胡 平, 赫 强. HPLC 法测定清经胶囊中小檗碱的含量 [J]. 华西药理学杂志, 1999, 14 (5): 385
[6] 马尔丽, 季 申. HPLC 测定消 A 洗液中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中成药, 2001, 23 (7): 493

(上接第 597 页)

表 1 样品中醋酸地塞米松、
盐酸丁卡因的含量测定结果 (n=3) %

批号	醋酸地塞米松的含量	盐酸丁卡因的含量	醋酸地塞米松 RSD	盐酸丁卡因 RSD
20040925	98.7	97.3	0.98	1.06
20041021	95.4	96.8	1.01	0.97
20040113	100.3	98.9	0.95	1.1

3 讨论

原产品质量标准中无含量测定项, 为严格控制产品质量, 保证药品的安全有效性, 增加了含量测定。经试验, 空白基质及辅助成分对醋酸地塞米松和盐酸丁卡因的测定没有干扰, 表明本法专属性强, 简单易行, 结果准确, 可满足复方地塞米松丁卡因乳膏中醋酸地塞米松、盐酸丁卡因的含量测定要求。

以甲醇-水为流动相, 盐酸丁卡因几乎无保留,

且拖尾; 每 100 mL 甲醇水中加入 0.15 mL 冰醋酸为流动相, 仍无改善; 采用本文所述流动相, 醋酸地塞米松和盐酸丁卡因的理论板数分别为 2101 和 4189, 两个色谱峰之间得分离度为 4.5, 可满足含量测定的要求。

取醋酸地塞米松、盐酸丁卡因对照品适量, 加流动相分别制成 10μg·mL⁻¹ 的溶液, 用紫外分光光度计在 200~400 nm 波长范围扫描, 醋酸地塞米松在 240 nm 处有最大吸收, 其 Abs 为 0.547; 而盐酸丁卡因在 240 nm 处其 Abs 为 0.464, 考虑到两者处方比例为 1/40, 故选择 240 nm 作为检测波长。

参考文献:

[1] 中国药典 [S]. 二部, 2000: 1018, 543
[2] 何 娅, 李仲苇, 郁超超. 高效液相色谱法测定粘膜溃疡膏中盐酸丁卡因的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 1998, 18 (2): 40