

RP-HPLC 法测定一清分散片中盐酸小檗碱的含量

★ 尚军¹ 欧阳辉² 徐伟亚² 王跃生² 冯作山¹ 杨世林² (1. 新疆农业大学食品科学学院 乌鲁木齐 830052; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

关键词: 一清分散片; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱法; 含量测定
中图分类号: TQ 460.7 文献标识码: B

一清分散片是由一清颗粒剂型改良而来, 由大黄、黄芩和黄连组成, 传统中医认为具有清热泻火解毒、化瘀凉血止血作用, 临床主要用于火毒血热所致的身热烦躁、目赤口疮、咽喉牙龈肿痛、大便秘结、吐血、咯血、衄血、痔血; 扁桃体炎、牙龈炎、咽炎等^[1]。其在《中国药典》2005 年一部中的质量控制是通过测定黄芩中黄芩苷作为定量控制, 黄连作为主药之一只有鉴别反应。为了制订该制剂的质量标准, 进一步加强对该制剂的质量控制, 确保临床用药的疗效, 作者研究了用反相高效液相色谱法测定一清分散片中盐酸小檗碱含量的方法, 取得了较满意的结果。

1 仪器与试剂

HP1100 型高效液相色谱仪, DAD 型检测器, Mettler 分析天平(梅特勒-托利多)。盐酸小檗碱对照品(批号: 110713-200208, 中国药品生物制品检定所提供)。乙腈为色谱纯, 水为蒸馏水(经 MILLIPORE 纯化仪), 其余试剂为分析纯。一清分散片本中心公司自制(批号 050801、050802、050803)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil TM C₁₈ (5 μ m, 250 mm $\times$ 4.6 mm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(29:71); 流速为 1.0 mL/min; 紫外检测波长为 264 nm; 柱温为 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱 21.06 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得浓度为 421.7 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 8 片, 研碎, 取 1g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇(1:100)25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 20 分钟, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 2.5 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 并加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备 取处方中缺黄连药材经工艺过程制得的阴性样品, 照“2.3”项下进行操作, 即得黄连阴性对照液。

2.5 系统适应性实验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L, 注入色谱仪中测定, 在此条件下, 盐酸小檗碱与其它组分均能达到基线分离, 供试品中盐酸小檗碱的保留时间与对照品保持一致, 阴性对照液无干扰。

2.6 线性关系考察 取上述对照品溶液, 分别精密量取

0.5、1、2、4、8 及 10 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 即得, 分别取 10 μ L 依次进样, 以盐酸小檗碱对照品峰面积积分值为纵坐标(Y), 对照品浓度(μ g $\cdot$ mL⁻¹)为横坐标(X), 进行线性回归, 回归方程($n=6$)为 $Y=29.199X+2.009$ ($r=0.9998$), 表明盐酸小檗碱浓度在 21.06~421.2 μ g 的范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度实验 取一清分散片样品, 按“2.4”项下同法操作制备 1 份供试品溶液, 取该溶液, 重复进样 5 次, 每次进样 10 μ L, 测定盐酸小檗碱峰面积积分值, 得其 $RSD=0.81\%$ ($n=5$)。

2.8 重复性试验 取同一批样品(批号: 20050803)5 份, 分别按“2.3”项下方法操作, 制备供试品溶液 5 份, 依次进样, 每次进样 10 μ L, 测定盐酸小檗碱峰面积积分值, 得其 $RSD=1.87\%$ ($n=5$)。

2.9 稳定性试验 取重现性项下 1 份样品, 分别于 0、2、4、8、16 及 24 小时后进样, 每次进样 10 μ L, 测定盐酸小檗碱峰面积积分值, 得其 $RSD=1.38\%$ ($n=6$), 表明供试品溶液在 24 小时内基本稳定。

2.10 加样回收试验 取已知含量的一清分散片细粉约 0.40 g 6 份, 置具塞锥形瓶中, 按 80%、100%、120% 的量各加入盐酸小檗碱对照品一定量, 精密称定, 精密加入盐酸-甲醇(1:100)20 mL, 称定重量, 超声处理 20 分钟, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密吸取续滤液 3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

分别取 10 μ L 注入液相色谱仪, 检测峰面积, 计算回收率, 结果见平均回收率达 97.99%, $RSD=2.1\%$ ($n=6$)。

2.11 样品测定 取 3 批一清分散片样品(20050801、20050802、20050803), 按“2.3”项下制备供试品溶液, 依法进行测定, 记录色谱峰面积, 以外标法计算, 结果见表 1。

表 1 一清分散片中盐酸小檗碱的平均含量($n=3$)

批号	盐酸小檗碱含量/mg $\cdot$ 片 ⁻¹	RSD (%)
050801	39.26	1.43
050802	37.46	1.25
050803	38.57	0.76

3 讨论

3.1 流动相的选择 作者在参考有关文献^[2,3]上选出乙腈-0.1% 磷酸溶液(29:71)作为流动相分离效果甚佳, 还同期考察了甲醇-水-三乙胺、甲醇-0.1% 磷酸等流动相配比, 发现在

壮阳春滴丸质量标准研究

★ 车庆珍 (江苏省徐州医药高等专科学校 徐州 221116)

★ 袁绍莉 张金炼 (江苏省徐州颐海制药厂 徐州 221006)

关键词:壮阳春滴丸;黄芪甲苷;薄层色谱;高效液相色谱

中图分类号:R 284.1 文献标识码:B

壮阳春滴丸是由黄芪、何首乌、枸杞子等7味中药组成,具有补肾壮阳、益精补虚的作用。该药成分复杂,为了有效控制本品的内在质量,对方中黄芪、何首乌、枸杞子进行薄层定性鉴别,并改进试验条件,对其中主要有效成分黄芪甲苷采用高效液相色谱法进行含量测定,方法简便、灵敏、可靠。

1 仪器与试剂

Waters515 高效液相色谱仪, Breeze 色谱工作站, 蒸发光散射检测器(ELSD2000)。乙腈为色谱纯;水为重蒸水;其它试剂为分析纯。黄芪甲苷(供含量测定用)、大黄素、枸杞子对照药材、黄芪对照药材(均为供鉴别用)均购自中国药品生物制品检定所,壮阳春滴丸由江苏颐海药业有限责任公司提供。

2 薄层定性鉴别

2.1 黄芪 TLC 鉴别^[1] 取本品适量,研细,称取5.0 g,置索氏提取器中,加无水乙醇60 mL,水浴回流提取6小时,提取液蒸干,残渣加0.5% NaOH 溶液30 mL 使溶解,滤过,滤液用稀盐酸调节 pH 至3~4,用乙酸乙酯振摇提取3次,每次30 mL,合并乙酸乙酯提取液,用底部铺有少量无水硫酸钠的滤纸滤过,置水浴上蒸干,残渣加乙酸乙酯1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪对照药材1.0 g,加无水乙醇30 mL,同法制成对照药材溶液。再取缺黄芪阴性样品5 g,同法制成阴性对照溶液。分别吸取上述对照药材溶液5 μ L、供试品溶液10~20 μ L、

阴性对照溶液10~20 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(9:5)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏后置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无相应斑点。

2.2 何首乌 TLC 鉴别^[2,3] 取大黄素对照品适量,加乙酸乙酯制成每1 mL 含1 mg 的溶液,作为对照品溶液,另取缺何首乌阴性样品,按黄芪鉴别项下供试品溶液制备法制成阴性对照溶液,分别吸取上述对照品溶液5 μ L、黄芪鉴别项下供试品溶液10~20 μ L、阴性对照溶液10~20 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(5:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏后观察,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的红色斑点。而阴性样品中无相应的斑点。

2.3 枸杞子 TLC 鉴别^[4] 取枸杞子对照药材1.0 g,加水30 mL 煮沸45分钟,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣按黄芪鉴别项下供试品溶液制备方法,自“残渣加0.5% NaOH 溶液30 mL 使溶解”起,依法制备,即得对照药材溶液。另取缺枸杞子阴性样品,同法制成阴性对照溶液。吸取上述对照药材溶液、黄芪鉴别项下供试品溶液和阴性对照溶液各5~10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G

此条件下盐酸小檗碱与其他组分不能达到基线分离。

3.2 检测波长的选择 采用高效液相色谱仪二极管阵列检测器的波长扫描功能,进行波长扫描,发现盐酸小檗碱在264 nm 处有最大吸收,故采用264 nm 为盐酸小檗碱的检测波长。

3.3 提取方法的选择 作者分别用甲醇、50% 甲醇、甲醇-盐酸(100:1)等作为溶剂,照含量测定项下操作,结果用甲醇-盐酸(100:1)作为提取溶剂其含量测定值较高,且超声20分钟即可提取完全,且盐酸小檗碱与样品中其他峰基线分

离。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 289~290
- [2] 孙光文, 胡华明, 杨先哲, 等. HPLC 测定黄连膏中小檗碱的含量[J]. 中成药, 2004, 26(10): 附 25~26
- [3] 林志华, 宋敏, 李苗. 反相高效液相色谱法测定黄连及制剂中小檗碱的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(12): 738~73

(收稿日期:2006-08-05)