

反相高效液相色谱法测定妇炎消片中 盐酸小檗碱含量

赵为民^{a*} 仲崇林^b 杨美林^b 刘诗月^b

(^a长春中医学院附属医院 长春 130021; ^b吉林省中医中药研究院 长春)

关键词 妇炎消片 盐酸小檗碱 高效液相色谱法

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 1000-0518(2005)06-0682-03

妇炎消片由椿皮、五味子、黄柏、茯苓、阿胶、山药、苦参7味中药组成,具有清热燥湿、收敛止带功效,用于慢性宫颈炎、子宫内膜炎、阴道粘膜炎等引起的湿热型赤白带等症,其中黄柏所含的主要有效成分为盐酸小檗碱(berberine hydrochloride),对妇科各种炎症有显著治疗作用。为了更好地控制盐酸小檗碱的质量,本文研究了测定妇炎消片中盐酸小檗碱含量的方法。测定中成药中黄柏所含有效成分盐酸小檗碱的方法有分光光度法、双波长薄层扫描法和高效液相色谱法等^[1-3],其中高效液相色谱法较为方便和精确。本文采用高效液相色谱法对妇炎消片中黄柏所含有有效成分盐酸小檗碱进行了测定,并且对文献[4~8]所用色谱条件进行对比试验。结果表明,高效液相色谱法重现性好,色谱峰分离度高,含量测定结果精密度和稳定性好,能有效地控制妇炎消片的质量。

LC-10ATvp型高效液相色谱仪(日本岛津公司),SPD-10AVP型检测器,色谱柱:Diamonsil C₁₈(200 mm×4.6 mm 5 μL),流动相为V(乙晴):V(0.02 mol 磷酸二氢钾)=30:70(用磷酸调pH=3.0),流速为1.0 mL/min,检测波长为347 nm,灵敏度为0.01AUFS,柱温为室温,N2010型色谱数据工作站(浙江大学智能信息工程研究所)。

盐酸小檗碱(中国生物制品检测鉴定研究所,批号0713-200107);妇炎消片(自制,批号030401,030402,030403);乙晴(色谱纯);水为重蒸馏水,其它试剂均为市售分析纯。

称取盐酸小檗碱作为试样,采用以甲醇为试剂配制1.0 mL甲醇中含盐酸小檗碱101.3 μg的溶液作为对照试样溶液。分别吸取上述的4.0、8.0、12.0、16.0、20.0 μL溶液,注入液相色谱柱中进行测定,以峰面积积分值为纵坐标,盐酸小檗碱的浓度为横坐标,测定结果进行线性回归计算。

测得回归方程: $Y = 295\ 353.51 + 2\ 280\ 860.29X$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明,盐酸小檗碱含量在0.4052~2.026 μg范围内呈良好的线性关系。

按样品组成配制不含盐酸小檗碱的样品,参照上述配制方法制备阴性样品液,进样10 μL进行液相色谱测定。

取上述3个批号的妇炎消片剂各20片,研细,分别取粉末约1.0 g置于50 mL称量瓶中,加入V(盐酸):V(甲醇)=1:100混合液至近刻度,在60℃水浴上加热15 min,超声处理(功率250 W,频率1 kHz)30 min,室温放置过夜,加甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤,滤液注入到氧化铝净化柱(10 g氧化铝,95%甲醇湿法装柱,φ1.5 cm)中,用50 mL体积分数为95%的甲醇溶液进行洗脱,收集洗脱液,浓缩至干,残渣加甲醇溶解,并定量转移至25 mL容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,为试样I(批号030401)、试样II(批号030402)、试样III(批号030403)3个测试样品。各取10 μL测试样品采用HPLC进行测定,用外标法定量。

结果与讨论

图 1 为采用液相色谱测得的盐酸小檗碱阴性图谱。图中可见 ,其他成分在相应的保留时间内对盐酸小檗碱含量的测定无干扰。

样品的液相色谱如图 2 和图 3 所示。图 2 为盐酸小檗碱对照品的 HPLC 谱图 ,图 3 为盐酸小檗碱样品谱图。样品的含量测定结果为 :c(berberine hydrochloride)(mg · tablet⁻¹) :Sample I(030401) : 4. 94 ,Sample II(030402) : 5. 31 ,Sample III(030403) : 5. 11。

取试样 II(030402) 5 份 ,平均为 0. 35 g/tablet (含盐酸小檗 5. 31 mg/ tablet) ,取样量分别为 : 0. 492 3、0. 489 7、0. 490 4、0. 483 8 和 0. 483 1 g ,再精确加入一定量的盐酸小檗碱溶液 ,按“ 上述测定样品 ”方法进行测定。实验结果见表 1。

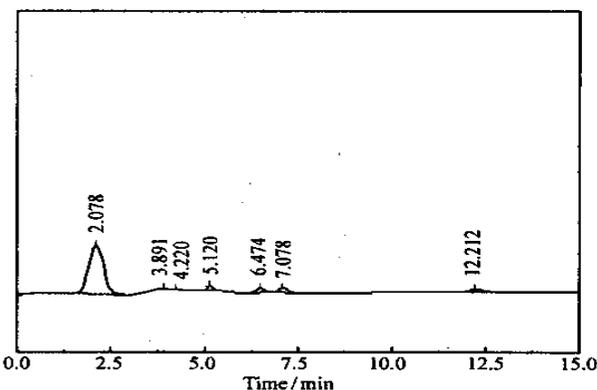


图 1 盐酸小檗碱阴性图谱

Fig. 1 Negative chart of berberine hydrochloride

表 1 回收率实验结果

Table 1 Recoveries of berberine hydrochloride

Berberine hydrochloride/mg	Added/mg	Measured quantity/mg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
7. 44	8. 86	16. 11	97. 86		
7. 40	8. 93	16. 06	96. 98		
7. 41	8. 67	15. 91	98. 04	98. 18	0. 92
7. 31	8. 61	15. 80	98. 61		
7. 30	8. 44	15. 69	99. 41		

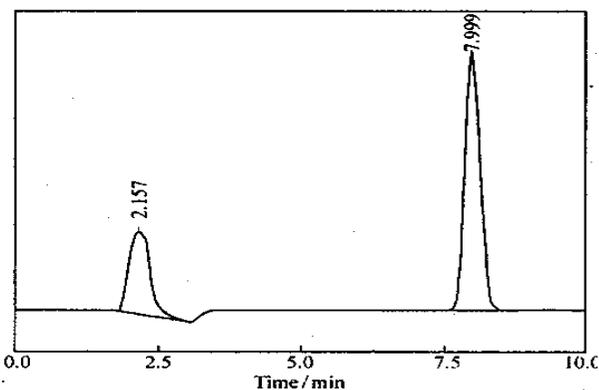


图 2 盐酸小檗碱对照品图谱

Fig. 2 Reference substance chart of berberine hydrochloride

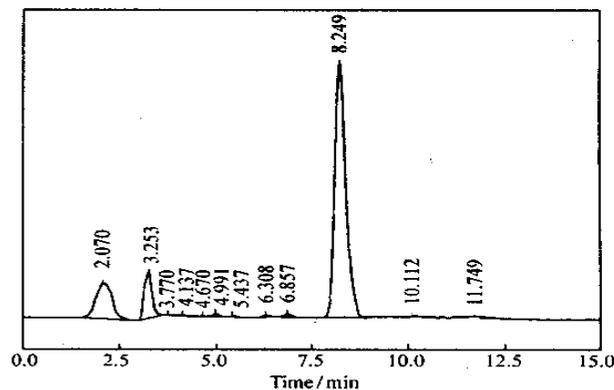


图 3 盐酸小檗碱样品图谱

Fig. 3 Sample chart of berberine hydrochloride

精确吸取试样 II(030402) 按上述样品含量采用液相色谱测定方法制成测试样品溶液 ,重复进样 5 次 ,测定结果为 c(berberine hydrochloride)(mg · tablet⁻¹) 5. 35、5. 31、5. 29、5. 37、5. 27 ;平均值为 5. 31 mg/tablet 相对标准偏差(RSD)为 0. 78%。

精确吸取试样 II(030402) 按上述样品含量液相色谱测定方法进行测定(平行测定 5 次)重现性实验结果为 c(berberine hydrochloride)(mg · tablet⁻¹) 5. 24、5. 32、5. 31、5. 29、5. 41(平均值为 5. 31) ;相对标准偏差(RSD)为 1. 16%。

因本品为中药复方制剂 ,其它药味有较大干扰 ,无法采用分光光度法对其中黄柏所含有效成分盐酸小檗碱进行测定 ,因此在此采用双波长薄层扫描法对同一样品(试样 II 030402)中的盐酸小檗碱进行含

量测定。比较2种方法对含量、回收率、精密度和重现性测定结果,采用文献[6,7]所报道双波长薄层扫描法对试样II(030402)进行测定,结果为试样II的盐酸小檗碱含量为4.66 mg/tablet,加样回收率为87.60%。精密度和重现性的相对标准偏差(RSD)分别为2.44%和3.26%,表明双波长薄层扫描法对本品中盐酸小檗碱含量测定结果的回收率、精密度和重现性均较差,不宜作为对本品的含量测定方法。

参 考 文 献

- 1 GAO Jia-Rong(高家荣). *Chin Pharm*(中国药师) [J] 2004, **14**(11):31
- 2 MENG Jun(孟珺). *J Math Med*(数理医药学杂志) [J] 2004 (1):21
- 3 YANG Xiao-Yun(杨晓云). *Trad Chin Drugs Res Clinical Pharm*(中药新药与临床药理) [J] 2003, **14**(1):51
- 4 LÜ Lin(吕琳), ZHU Yu-Ming(朱宇明). *Chin Trad Herbal Drugs*(中草药) [J] 2000, **31**(1):28
- 5 WANG Ying(王鹰). *J Shanxi College Chin Trad Med*(陕西中医学院学报) [J] 2003, **26**(4):46
- 6 ZHAO Wei-Juan(赵维娟), ZHANG Mei(张梅), XU Jing-Feng(许景峰), et al. *Parm J Chin People's Liberation Army*(解放军药学学报) [J] 2004 (6):21
- 7 WU Yi(伍毅). *Trad Chin Drugs Res Clinical Pharm*(中药新药与临床药理) [J] 2004 (5):15
- 8 WEI Ning(韦宁). *Chin Trad Patent Med*(中成药) [J] 2004 (9):25

Determination of Berberine Hydrochloride Content in Fuyanxiao Tablets by RP-HPLC

ZHAO Wei-Min^a, ZHONG Chong-Lin^b, YANG Mei-Lin^b, LIU Shi-Yue^b

(^aThe Affiliated Hospital of Changchun Traditional Chinese Medicine University, Changchun 130021;

^bJilin Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changchun)

Abstract An RP-HPLC method was used to determine the content of berberine hydrochloride in Fuyanxiao tablets on a Diamonsil C₁₈ column. The mobile phase was a CH₃CN/KH₂PO₄(volume ratio 30:70) mixture of pH = 3, and the average rate of recovery of berberine hydrochloride was 98.18%, with a RSD of 0.92% (n = 5). The method is simple and accurate, and can be used for the quality control in the production of Fuyanxiao tablet.

Keywords Fuyanxiao tablet, berberine hydrochloride, HPLC