

- 共卫生, 2010, 26(8): 1009-1010.
- [2] 乔义岭, 魏艳静, 姜秀芳. 芝麻素对四氯化碳慢性肝损伤大鼠肝脏的保护作用[J]. 河北中医, 2010, 32(11): 1711-1713.
- [3] 安建博, 张瑞娟. 芝麻素对高脂血症大鼠脂代谢的作用[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2010, 31(1): 67-70.
- [4] 卞红磊. 芝麻素对 S₁(180) 荷瘤小鼠免疫功能及对增殖细胞核抗原表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(23): 3411-3413, 3417.
- [5] 魏艳静, 卞红磊, 余文静, 等. 芝麻素对肝癌 H₂₂(22) 细胞增殖及 H₂₂ 荷瘤小鼠肿瘤生长的影响[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1222-1224.
- [6] 朱慧, 耿婷, 张丽, 等. 荆芥内酯平衡溶解度和油水分配系数的测定[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(23): 3144-3146.
- DOI 10.3870/yydb.2012.08.029

高效液相色谱法测定足宁颗粒中盐酸小檗碱含量

郭俊浩, 杜光, 王萍韬

(华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030)

摘要 目的 建立测定足宁颗粒中盐酸小檗碱含量的高效液相色谱法。方法 采用高效液相色谱法, 用 Dionex C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸(50:50)为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 265 nm, 柱温为室温。结果 盐酸小檗碱在 5~50 μg 范围内线性关系良好($r=0.999\ 9$, $n=6$), 平均回收率 100.201%, RSD=0.49%。结论 该法简便、准确、重复性好, 可作为足宁颗粒产品质量的定量依据之一。

关键词 小檗碱, 盐酸; 足宁颗粒; 色谱法, 高效液相

中图分类号 R286; R927.1 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)08-1057-02

Determination of Berberine Hydrochloride in *Zuning* Granules by HPLC

GUO Jun-hao, DU Guang, WANG Ping-tao (Department of Pharmacy, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Objective To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of berberine hydrochloride in *zuning* granules. **Methods** The HPLC method was employed to determine berberine hydrochloride. The separation was achieved on a Dionex C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The mobile phase is acetonitrile-0.1% H₃PO₄ (50:50). The detection wavelength was 265 nm, and the column temperature was set at room temperature. **Results** The linear range of berberine hydrochloride was within 5-50 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 100.201% and RSD was 0.49%. **Conclusion** The method is simple, accurate and repeatable. It is proved to be suitable for the quality control of *zuning* granules.

KEY WORDS Berberine hydrochloride; *Zuning* granules; High performance liquid chromatography

足宁颗粒是在现代中医理论的指导下, 联系临床诊疗实际, 结合民间验方组方而成。由黄柏、蛇床子、土荆皮等 6 味药材组成, 具有清热燥湿、收敛止汗、杀菌止痒功效, 主要用于手足癣等皮肤疾病。笔者在本实验中建立了足宁颗粒有效成分盐酸小檗碱的含量测定方法, 为制定其质量标准提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters515-717 型高效液相色谱仪, Waters-486 型紫外检测器。

收稿日期 2011-11-30 修回日期 2011-12-25

作者简介 郭俊浩(1978-), 女, 河南郑州人, 在读硕士, 研究方向: 中药药理作用机制。E-mail: zgzuoqi@yeah.net。

通讯作者 杜光, 男, 教授, 博士生导师, 主任药师, 主要从事中药药理与药事管理工作。电话: 027-83662557。

1.2 试剂 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110713-200911), 足宁颗粒(自制, 批号: 100526, 100528, 100531), 乙腈为色谱纯, 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Dionex C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸(50:50); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 265 nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。在此条件下, 对照品、样品、空白样品色谱分离图中盐酸小檗碱色谱峰与其他峰较好分离, 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 100 °C 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品适量, 加流动相制成 0.1 mg·mL⁻¹ 溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品颗粒 5 g,研细,精密称取 0.5 g,置 25 mL 量瓶,加流动相适量,超声处理 30 min,放冷,加流动相至刻度,摇匀、放冷,取上清液,孔径 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方比例制备不含黄柏的颗粒,按“2.2.2”项方法制备样品溶液。

2.3 线性关系考察 取盐酸小檗碱对照品溶液,精密吸取 0.5,1,2,3,4,5 mL 置 10 mL 量瓶,加流动相至刻度,摇匀,作为不同浓度对照品溶液。分别吸取上述对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪进行测定,以浓度 (X) 对峰面积 (Y) 进行线性回归,得回归方程: $Y = 40\,948.750\,7X + 52\,704.274\,0$, $r = 0.999\,9$ ($n = 6$)。结果表明盐酸小檗碱在 5 ~ 50 μg 范围内线性关系良好。

2.4 精密度考察 精密吸取同一盐酸小檗碱对照品溶液,重复进样 6 次,测定峰面积积分值,色谱峰面积 RSD 值为 1.14%。表明仪器精密度良好。

2.5 重复性实验 取同一样品 6 份,按样品溶液制备方法平行操作,分别测定,测得平均含量为 6.799 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, RSD = 1.13%。表明该方法重复性良好。

2.6 稳定性实验 取同一样品,分别在 0,2,4,6,8,10,12 h 进样,记录色谱峰面积, RSD 为 0.69%,结果表明样品溶液至少在 12 h 内稳定。

2.7 加样回收率实验 称取足宁颗粒 9 份,按照“2.2.2”项下制备样品溶液,分别加入一定量的对照品溶液,按样品含量测定方法测定,计算回收率。结果平均回收率为 100.201%, RSD 为 0.49%。见表 1。

2.8 样品的含量测定 取样品 3 批,按供试品制备方法项下方法制备样品溶液,采用上述色谱条件,计算样品中盐酸小檗碱平均含量分别为 481.90, 470.45, 478.08 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

足宁颗粒为复方制剂,黄柏为方中君药,盐酸小檗碱是黄柏的主要活性成分之一,具有良好的杀菌作用^[1],为此选择该成分为含量测定指标。

表 1 盐酸小檗碱加样回收实验结果

Tab.1 Result of recovery of berberine hydrochloride			
样品量	加入量	测得量	回收率/
	μg		%
1.065	10.00	11.201	101.36
1.101	10.00	11.122	100.21
1.119	10.00	11.107	99.88
1.013	20.00	21.114	100.51
1.093	20.00	21.105	100.06
1.007	20.00	21.001	99.97
1.034	30.00	31.112	100.26
1.108	30.00	31.007	99.66
1.007	30.00	30.977	99.90

文献报道高效液相色谱法测定盐酸小檗碱流动相有多种选择^[2-4],经反复筛选,选用乙腈-0.1% 磷酸 (50 : 50) 为流动相,在 265 nm 波长处基线平稳,出峰时间快,分离效果较好,且流动相配制方法简单。同时,对超声处理时间进行了考察,分别是 10,20,30,45 min,结果超声处理 30 与 45 min 样品溶液盐酸小檗碱含量没有显著性差异,为确保供试品提取完全,选取超声处理 30 min 制备供试品溶液。

笔者在文献研究方法的基础上,结合本品的药味性质,确定了以高效液相色谱法测定足宁颗粒中盐酸小檗碱的含量,经方法学考察和回收率实验,证明该方法准确、灵敏、快速,可作为足宁颗粒剂质量控制的指标之一。

参考文献

- [1] CERNAKOVA M, KOSTALOVA D. Antimicrobial activity of berberina-a constituent of *Mahonia aquifolium* [J]. Folia Microbiol, 2002, 47(4): 375-378.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 286.
- [3] 于志刚, 程培秀. 金鸡颗粒中药材的鉴别与盐酸小檗碱的测定 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1): 90-92.
- [4] 严钟亮, 谢岱, 马威, 等. 高效液相色谱法测定半夏调中颗粒中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(10): 1337-1338.

DOI 10.3870/yydb.2012.08.030