

HPLC法测定颈复康颗粒中盐酸小檗碱的含量

王洪明*,许学丽(滨州市药品检验所,山东滨州 256618)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)48-4586-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.48.28

摘要 目的:建立测定颈复康颗粒中盐酸小檗碱含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈柱,流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节pH至3.0,30:70, V/V),检测波长为350 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:盐酸小檗碱进样量在0.024 4~0.488 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.33%;平均加样回收率为99.0%,RSD=0.57%($n=6$)。结论:该方法简单、准确、重复性好,可用于颈复康颗粒的质量控制。

关键词 颈复康颗粒;盐酸小檗碱;含量测定;高效液相色谱法

Content Determination of Berberine Hydrochloride in Jingfukang Granules by HPLC

WANG Hong-ming, XU Xue-li (Binzhou Institute for Drug Control, Shandong Binzhou 256618, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of berberine hydrochloride in Jingfukang granules. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05 mol/L sodium hydrogen phosphate (pH value adjusted to 3.0 using phosphoric acid, 30:70, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 350 nm, and the column temperature was 30 ℃. The injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of berberine hydrochloride was 0.024 4-0.488 μg ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 99.0% (RSD=0.57%, $n=6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1.33%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible and can be used for the quality control of Jingfukang granules.

KEY WORDS Jingfukang granules; Berberine hydrochloride; Content determination; HPLC

颈复康颗粒收载于《中国药典》2010年版(一部),主要由羌活、川芎、葛根、关黄柏等21味中药制成,具有活血通络、散风止痛之功效,主要用于风湿痹阻所致的颈椎病^[1]。其中,关黄柏具有清热燥湿等功效,而盐酸小檗碱为关黄柏的主要有效成分^[2-3]。故笔者参考有关文献^[1,4-9],采用高效液相色谱(HPLC)法对颈复康颗粒中盐酸小檗碱的含量进行测定,以更好地控制颈复康颗粒的产品质量提供科学依据。

1 材料

LC-20A 高效液相色谱仪,配备SPD-20A紫外检测器(日本岛津公司);CP225D电子天平(德国赛多利斯公司);SY-360超声波提取器(上海宁商超声仪器有限公司)。

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110713-200910,质量分数:97.9%);颈复康颗粒(承德颈复康药业集团有限公司,批号:290302、290431、190301);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节pH至3.0,30:70, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:350 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取盐酸小檗碱对照品12.46 mg,置于100 ml量瓶中,加盐酸甲醇溶液(1→100)溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(质量浓度:0.122 0 mg/ml)。精密量取上述对照品贮备液5 ml,置于100 ml量瓶中,用盐酸甲醇溶液(1→100)稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液(质量浓度:6.10 μg/ml)。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量,研细,混匀,取粉末约2.0 g,精密称定,置于100 ml量瓶中,加盐酸甲醇溶液(1→100)约70 ml,超声处理30 min(功率:360 W,频率:40 kHz),放冷,加盐酸甲醇溶液(1→100)稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm孔径微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 根据其质量标准中制剂的处方及制法自制不含关黄柏的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法处理,即得阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

按“2.1”项下色谱条件,分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各20 μl进样测定,记录色谱,详见图1。结果,供试品溶液中盐酸小檗碱峰保留时间与对照品溶液的保留时间一致,且与相邻杂质峰分离较好;阴性对照溶液在盐酸小檗碱峰相应位置处无吸收峰,说明其对含量测定无干扰。

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液1.0、2.0、5.0、10.0、

* 主管药师。研究方向:药品检验及药品质量。电话:0543-3322690

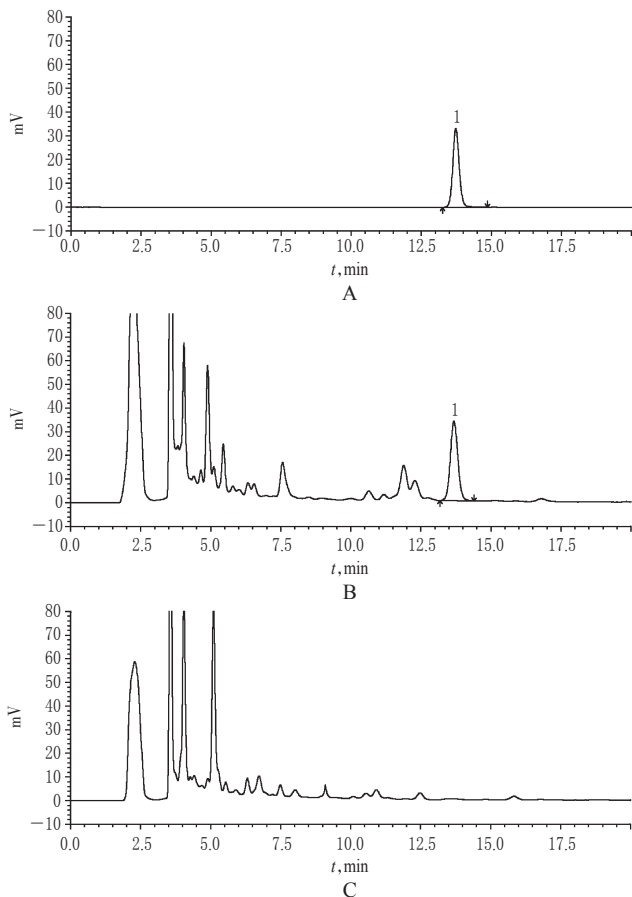


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 盐酸小檗碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test samples; C. negative control; 1. berberine hydrochloride

20.0 ml, 分别置于 100 ml 量瓶中, 用盐酸甲醇溶液(1→100)稀释至刻度, 摇匀, 每个浓度进样 20 μl, 记录色谱。以盐酸小檗碱的峰面积(y)为纵坐标, 进样量(x)为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $y = 4\ 560\ 332x - 20\ 865$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明, 盐酸小檗碱进样量在 0.024 4~0.488 μg 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 重复进样 5 次, 记录盐酸小檗碱的峰面积。结果, $RSD = 0.15\%$, 表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号: 209302)适量, 分别于放置 0、2、4、8、10、12 h 时进样, 记录盐酸小檗碱的峰面积。结果, $RSD = 0.58\%$, 表明供试品溶液在 12 h 内质量稳定。

2.7 重复性试验

精密称取样品(批号: 290302)6 份, 各约 2.0 g, 分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 并计算其中盐酸小檗碱的含量。结果, $RSD = 1.33\%$, 表明本方法的重复性较好。

2.8 加样回收率实验

精密称取已知含量的样品(批号: 290302)6 份, 各约 1.0 g, 分别精密加入“2.2.1”项下对照品溶液 2.5 ml, 按“2.2.2”项下方

法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 并计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ($n = 6$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n = 6$)

称样量, g	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1.023 5	0.366 4	0.305 0	0.666 8	98.5		
1.012 6	0.362 5	0.305 0	0.666 0	99.5		
1.018 3	0.364 6	0.305 0	0.668 5	99.6		
1.005 5	0.360 0	0.305 0	0.662 2	99.1	99.0	0.57
1.016 0	0.363 7	0.305 0	0.663 2	98.2		
1.014 2	0.363 1	0.305 0	0.665 9	99.3		

2.9 样品含量测定

取 3 批颈复康颗粒样品各适量, 分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。取盐酸小檗碱对照品溶液和 3 批供试品溶液各 20 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 按外标法以峰面积分别计算样品中盐酸小檗碱的含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n = 2$)

Tab 2 Results of content determination of samples ($n = 2$)

批号	含盐酸小檗碱的量, mg/g
290302	0.358
290431	0.220
190301	0.437

3 讨论

3.1 检测波长的选择

盐酸小檗碱的检测多采用 265 和 350 nm 附近波长^[1,7-9], 经预试验比较, 采用 350 nm 波长测定时, 样品中盐酸小檗碱峰附近的杂质峰数量较少, 基线较好, 对测定无干扰。故选用 350 nm 作为本实验的检测波长。

3.2 流动相的选择

预试验中曾采用乙腈-0.1% 磷酸溶液(每 100 ml 中加入十二烷基硫酸钠 0.1 g, 50:50, V/V)作为流动相^[9], 结果盐酸小檗碱峰出峰过早, 与相邻杂质峰不能有效分离。参考有关文献^[1], 采用乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 至 3.0, 30:70, V/V)作为流动相, 此时盐酸小檗碱的峰形较好, 与相邻杂质峰能达到较好分离, 保留时间适中。故采用后者作为本试验的流动相。

3.3 提取方法的选择

预试验分别考察了超声提取法和回流提取法对测定结果的影响。结果表明, 以盐酸甲醇溶液(1→100)为溶剂, 超声处理 30 min, 提取效果较好, 与加热回流提取效果相当。而超声提取操作简便, 且色谱图中杂质峰较少, 对测定盐酸小檗碱的含量影响较小, 故选用超声提取法对样品进行处理。

综上所述, 本方法简单、准确、重复性好, 可用于颈复康颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1 138-1 139, 1 142-1 143.
- [2] 宋立人, 洪恂, 丁绪亮, 等. 现代中药学大辞典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1 883-1 884.
- [3] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 310-311.
- [4] 朱志明, 赖潇潇, 苏慕霞. 不同产地黄柏及关黄柏有效成

GC法同时测定跌打万花油中4种成分的含量

蒋忠军*,陈新国,张 莉#,黄俊忠(广东省食品药品检验所,广州 510180)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)48-4588-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.48.29

摘要 目的:建立同时测定跌打万花油中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的方法。方法:采用气相色谱法,以挥发油测定器蒸馏制备供试品溶液。色谱柱为安捷伦DB-WAX极性毛细管色谱柱,采用程序升温,检测器为氢火焰离子化检测器,进样口温度为210℃,检测器温度250℃,载气为氮气,流速为73.5 ml/min,不分流进样,进样量为1 μl。结果:樟脑、薄荷脑、冰片(异龙脑和龙脑)、水杨酸甲酯的检测质量浓度分别在0.062 3~1.993、0.25~8.011、0.444~14.221、0.373~11.956 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系(r 均为0.999 6);精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤3.22%;平均加样回收率分别为101.11%、103.14%、100.60%、102.04%,RSD分别为2.19%、2.03%、2.15%、2.88%($n=6$)。结论:该方法重复性好、灵敏度高、结果准确,可用于跌打万花油的质量控制。

关键词 气相色谱法;跌打万花油;樟脑;薄荷脑;冰片;水杨酸甲酯;含量测定

Simultaneous Determination of the Content of 4 Components in Dieda Wanhua You by GC

JIANG Zhong-jun, CHEN Xin-guo, ZHANG Li, HUANG Jun-zhong (Guangdong Institute for Food and Drug Control, Guangzhou 510180, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of camphor, menthol, synthetic borneol and methyl salicylate in Dieda wanhua you. METHODS: GC was applied to quantitative analysis. Test solution was prepared by distillation with volatile oil detector. Using temperature programmed, FID as detector and nitrogen as carrier gas, the experimented column was Agilent DB-WAX polar capillary column with splitless injection at the flow rate of 73.5 ml/min. The injector temperature was 210 °C and detector temperature was 250 °C. The injection volume was 1 μl. RESULTS: The linear ranges of camphor, menthol, synthetic borneol (isoborneol and borneol) and methyl salicylate were 0.062 3-1.993, 0.25-8.011, 0.444-14.221 and 0.373-11.956 mg/ml respectively ($r=0.999 6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.22%. The average recoveries were 101.11% (RSD=2.19%, $n=6$), 103.14% (RSD=2.03%, $n=6$), 100.60% (RSD=2.15%, $n=6$) and 102.04% (RSD=2.88%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is reproducible, sensitive, accurate and suitable for the quality control of Dieda wanhua you.

KEY WORDS GC; Dieda wanhua you; Camphor; Menthol; Synthetic borneol; Methyl salicylate; Content determination

跌打万花油是一种传统的外用中成药,由红花、独活、白及、马钱子、两面针、冰片等多种中药成分组成,主治跌打损伤、撞击扭伤、刀伤出血及烫伤所致的皮肤肿胀、充血、出血,关节肿痛等软组织损伤诸症以及风湿痹痛、筋骨不利诸证^[1]。跌打万花油的标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十八册。其药品标准只收载了用气相色谱(GC)法鉴别跌打万花油中的冰片、樟脑、薄荷脑和照挥发油测定法甲法(附录X D)测定挥发油的含量,但其中没有同时测定樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯含量的项目。目前,其他制剂中采用

GC法测定冰片、樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量已有文献报道^[2-7]。本试验旨在探索建立以GC法同时测定跌打万花油中冰片(异龙脑和龙脑)、樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯含量的方法,为产品质量检验与控制 and 药品质量标准的修订提供技术支持。

1 材料

1.1 仪器

GC-2014型GC仪,配备氢火焰离子化检测器(FID,日本岛津公司);GH-300型高纯氢气发生器(北京中兴汇利科技发

分的含量测定[J].临床医学工程,2011,18(1):106.
[5] 高峰,王宇.高效液相色谱法测定关黄柏与川黄柏的有效成分的含量分析[J].黑龙江医药,2011,24(2):174.
[6] 刘丽娟,梁悦.RP-HPLC法测定前列舒通片中盐酸小檗

* 副研究员。研究方向:食品药品科技管理。电话:020-81079652。E-mail:864147220@qq.com

通信作者:副主任药师。研究方向:药品质量控制。电话:020-81900826。E-mail:514231455@qq.com

碱的含量[J].中国医药导报,2010,7(16):63.

- [7] 刘杰,葛亮,孙芸,等.RRLC测定关黄柏中盐酸小檗碱的含量[J].光谱实验室,2012,29(2):801.
[8] 陈庆辉,唐元军.知柏地黄丸中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量测定[J].药物分析杂志,2012,32(12):2198.
[9] 王静,秦伟.HPLC法测定康妇膜中盐酸小檗碱的含量[J].中国药房,2011,22(35):3309.

(收稿日期:2013-01-11 修回日期:2013-10-31)