

RP- HPLC 法测定优赛清栓剂中盐酸黄连素含量

刘有平¹, 杨振华², 曹延军³(1. 解放军第 463 医院药剂科, 沈阳 110042; 2. 山西医科大学药物研究所, 太原 030001)

摘要: 目的: 建立反相高效液相色谱法测定优赛清栓剂中盐酸黄连素含量的方法。方法: 采用 shim-pack CLC- ODS(4.5mm × 150mm) 色谱柱, 以 H₃PO₄(0.01mol/L): MeOH(AR) (65: 35) 为流动相, 流速为 1.0ml/min, 检测波长为 279nm。结果: 线性范围为 3~ 100μg/ml, 回归系数为 $r = 0.9999$ ($n = 6$), 测得盐酸黄连素的回收率为 99.4%, 相对标准偏差为 1.49%。结论: 本方法简便、准确、可靠, 适用于常规分析。

关键词: RP- HPLC; 优赛清栓剂; 盐酸黄连素

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0111(2001) 01- 0027- 02

RP- HPLC determination of berberine hydrochloride in You Sai Qing suppository

LIU You-ping, YANG Zhen-hua, Cao Yan-jun (1. Department of Pharmacy, No. 463 Hospital of PLA, Shenyang 110042, China; 2. Institute of Materia Medica, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACTS: OBJECTIVE: To study reversed phase high performance liquid chromatographic method for the determination of berberine hydrochloride (Ber) in You Sai Qing suppository. **METHODS:** Ber was chromatographed on a shim-pack CLC- ODS column with a mobile phase consisting of H₃PO₄ (0.01mol/L): MeOH (AR) (65: 35). The flow rate was 1.0ml/min and the monitoring wavelength is 279nm. **RESULTS:** The calibration curve was linear in the range of 3~ 100μg/ml. The recovery was 99.4%, RSD was 1.49%. **CONCLUSION:** The method is simple, accurate and relief and can be used to determine the Ber.

KEY WORDS: RP- HPLC; You Sai Qing suppository; berberine hydrochloride

优赛清栓剂由盐酸黄连素和对氨基水杨酸组成的复方制剂, 采用直肠给药可避免肝脏的首过效应。本文建立了反相高效液相色谱法, 以 279nm 作为检测波长, 方法准确、简便、成功地对盐酸黄连素进行了定量^[1]。

1 实验材料

岛津 LC- 10A 液相色谱仪, CR6A 数据处理仪; 盐酸黄连素对照品(中国生物制品检定所提供); 优赛清栓剂, 批号为 971203、971205、971207(山西医科大学药物研究所研制提供); 甲醇为分析纯; 磷酸为优级纯。

2 实验方法

2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack CLC- ODS 柱(250cm × 4.5mm ID); 流动相: 0.01mol/L 磷酸: 甲醇(65: 35), 流速为 1.0ml/min; 检测波长: 279nm; 进样量: 20μl; 灵敏度: 0.02auf; 定量方法: 外标法。

2.2 溶液的配制及色谱分离结果

精密称取对照品盐酸黄连素约 15mg, 用甲醇定

容至 25ml, 备用。用流动相将贮备液稀释至一定浓度, 定量进样得色谱图, 保留时间分别为 ($R_1 = 4.065min$, $R_2 = 7.647min$)。

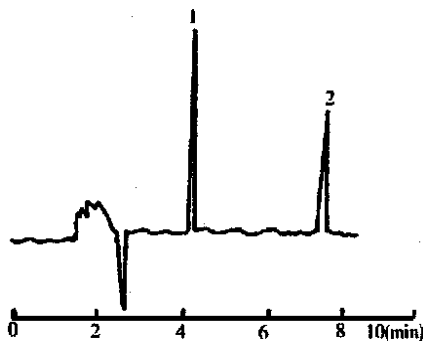


图 1 优赛清栓剂含量测定色谱图

1. 对氨基水杨酸, 2. 盐酸黄连素

2.3 干扰试验

按处方比例精密称取适量, 不含盐酸黄连素, 置 50ml 容量瓶中, 用甲醇定容, 在 40~ 50℃ 水浴熔化, 立即取出置冰水浴中 15min, 取出, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 1.00ml 置 10ml 容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 进样分析, 色谱图表明其它成

分对盐酸黄连素的测定不影响。

2.4 溶液稳定性试验

吸取稀释至一定浓度的对照品溶液, 室温放置, 在上述色谱条件下于不同时间分别进样。测定结果见表 1。

表 1 溶液稳定性试验结果 ($n=6$)

	时 间(h)						平均值	SD	RSD
	0	4	8	16	20	24			
峰面积	35762	35987	35663	35457	34264	35426	6	677.3	1.91

2.5 标准曲线的绘制

用流动相将贮备液稀释成 2~ 100 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液, 进样分析, 外标法定量, 以盐酸黄连素的峰面积对浓度进行线性回归, 得曲线方程: $A = 18602C + 183$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。其中, A 为峰面积, C 为浓度, 单位为 $\mu\text{g/L}$, 在试验条件下, 线性范围为 3~ 100 $\mu\text{g/L}$ 。

2.6 加样回收率试验

按处方比例精密称量盐酸黄连素和对氨基水杨酸及适量基质, 制成模拟混合样品, 置 50ml 容量瓶中, 用甲醇定容, 在 40~ 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴熔化, 立即取出置冰水浴中 15min, 取出, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 1.00ml 分别置 7 个 10ml 容量瓶中, 再分别加入盐酸黄连素贮备液各 0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.70ml 用流动相定容, 摇匀, 进样分析, 结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果

加入量 ($\mu\text{g/L}$)	测得量 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
0	5.400			
0.739	6.140	97.0		
1.478	6.810	99.0	99.4	1.49
2.217	7.590	99.6		
2.956	8.247	98.7		
3.695	9.186	100.9		
5.173	10.670	100.9		

(上接第 30 页)

- [5] 林锦明, 王忠壮, 郑汉臣. 差热分析法用于木犀属药材的鉴别[J]. 中药材, 1995, 18(11): 558.
- [6] 张汉明, 林锦明, 乔传卓. 珍珠粉及其伪品的差热分析研究[J]. 中成药, 1999, 21(4): 173.
- [7] 林锦明, 宓鹤鸣, 赵长文. 女贞子及其混淆品的差热分析鉴别[J]. 第二军医大学学报, 1996, 17(3): 293.
- [8] 陈栋华, 黄艳, 刘运英, 等. 差示扫描量热法在熊胆真伪鉴别中的应用[J]. 中国药学杂志, 1994, 29(8): 457.
- [9] 陈栋华, 刘雪峰, 黄艳, 等. 阿胶的差示扫描量热鉴别法研究

2.7 精密度试验

按处方比例精密称量制成 5 份模拟样品, 按上述方法处理测定, 其相对标准偏差为 1.27%。

2.8 样品测定

取优赛清栓剂 10 枚, 精密称定, 置一小烧杯中, 于 50~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热使熔化, 摇匀, 放冷, 切成碎片, 精密称取适量约 50mg 置 50ml 容量瓶中, 用甲醇定容, 在 40~ 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴熔化, 立即取出置冰水浴中 15min, 取出, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液 1.00ml 置 10ml 容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 进样分析, 3 批样品含量测定结果如下, 百分标示含量在 99.4%~ 100.6% 之间。

表 4 三批样品含量测定结果 ($n=3$)

批号	百分标示含量($X \pm SD$ %)	RSD%
971203	99.4 \pm 1.06	1.06
971205	101.2 \pm 0.56	0.55
971207	99.6 \pm 1.35	1.35

3 结果与讨论

样品溶液在 24h 内稳定, 测得峰面积相对标准偏差为 1.91%。采用反相高效液相色谱法, 流动相的 pH 值影响保留时间比较大, 浓度为 (0.01mol/L) 的磷酸: 甲醇 (AR) (65: 35) 作为流动相可使两组分得到很好的分离, 保留时间分别为 ($R_1 = 4.065\text{min}$, $R_2 = 7.647\text{min}$); 方法的准确度和精密度均好。在上述浓度范围内药物浓度与峰面积成良好的线性关系。色谱图表明: 在 279nm 波长处测定盐酸黄连素其它成分对测定不影响。

参考文献:

- [1] 王义明, 赵陆华, 林似兰, 等. 黄柏及中成药中小檗碱和巴马亭的高效液相色谱法测定[J]. 药学报, 1989, 24(4): 275.

收稿日期: 2000-07-08

[J]. 中草药, 1993, 24(6): 314.

- [10] 李成重, 刘午霞, 陈逸均. 差示扫描量热法鉴别珍珠粉和珍珠层粉[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(5): 379.
- [11] 李俊松, 陈逸均, 刘午霞. 乳香、没药和白胶香的差示扫描量热法鉴别[J]. 中药材, 1995, 18(2): 76.
- [12] 陈黎, 陈婉蓉. 人参和西洋参的热重分析法鉴别[J]. 中成药, 1997, 19(10): 15.
- [13] 郑俊民, 张连珠, 周晖. 用热分析技术和红外光谱法鉴别花鹿茸的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(3): 196.

收稿日期: 2000-07-16