

HPLC 测定田七跌打风湿软膏中盐酸小檗碱的含量

段冀江¹, 李沙沙², 翁立冬², 张璐², 刘莉², 刘强^{2*}

(1. 广州市海珠区素社街社区卫生服务中心, 广州 510515; 2. 南方医科大学, 广州 510515)

[摘要] 目的: 建立田七跌打风湿软膏中盐酸小檗碱的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH 3.0)(25:75)为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 265 nm。结果: 盐酸小檗碱在 0.043 74~0.437 4 mg 与峰面积呈良好的线性关系, $Y=0.000 2X+0.007 1$ ($r=0.999 9$); 平均回收率 99.34%, RSD 1.73%。结论: 方法简便、可靠、准确, 专属性强, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 田七跌打风湿软膏; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0085-03

[doi] 10.11653/syjf2013130085

Determination of Hydrochloric Berberine in Tianqidiedafengshi Ointment by HPLC

DUAN Ji-jiang¹, LI Sha-sha², WENG Li-dong², ZHANG Lu², LIU Li², LIU Qiang^{2*}

(1. Community Health Center of Sushe Street, Haizhu District, Guangzhou 510515, China;
2. Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of hydrochloric berberine in Tianqidiedafengshi ointment. **Method:** Samples were analyzed on an Agilent TC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) using acetonitrile-0.05 mol·L⁻¹ sodium dihydrogen phosphate (adjust the pH to 3.0 with phosphoric acid) (25:75) as mobile phase. Speed of flow was 1.0 mL·min⁻¹ and examination wave length was 265 nm. **Result:** Hydrochloric berberine showed a good linearity in the range of 0.043 74-0.437 4 mg, regression equation was $Y=0.000 2X+0.007 1$ ($r=0.999 9$) and the average recovery was 99.34% (RSD 1.73%). **Conclusion:** The

[收稿日期] 20110810(003)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2007B03140007)

[第一作者] 段冀江, 主管药师, 从事药剂学研究, Tel:020-62789408, E-mail:s19861020@126.com

[通讯作者] * 刘强, 教授, 博士, 从事中药新制剂与新剂型研究, Tel:020-61648264, E-mail:gzlq2002@163.com

- [5] 江蔚新, 闫丽丽. 双波长薄层扫描法测定东北龙胆中龙胆苦苷的含量[J]. 黑龙江中医药, 2008, 21(1):5.
- [6] 肖琳, 贾娜, 何姣, 等. 青叶胆药材及饮片中獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5):876.
- [7] 沈涛, 金航, 杨涛, 等. 不同产地野生滇龙胆中主要裂环烯醚萜类成分的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13):70.
- [8] 王金鹏, 王砚, 任华忠. HPLC 测定复方茵陈糖浆中龙胆苦苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):71.
- [9] 董婷霞, 詹华强, 王峥涛, 等. 龙胆药材中龙胆苦苷的含量测定[J]. 上海中医药杂志, 2009, 29(5):876.
- [10] 白兰, 赵明琴, 尹蓉莉, 等. 龙胆苦苷脂质体含量测定及包封率测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):48.
- [11] 曹悦, 樊飞, 左代英, 等. 龙胆药材中 3 种功效成分含量的同时测定[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5):1100.

[责任编辑 顾雪竹]

established methods are simple, accurate, reliable and can be used for the quality control of Tianqidiedafengshi ointment.

[Key words] Tianqidiedafengshi ointment; hydrochloric berberine; HPLC; quality standard

田七跌打风湿软膏是由三七、骨碎补、苏木、独活、羌活、黄柏、薄荷脑等 25 味药组成的外用非处方药,具有活血化瘀、舒筋通络、消肿止痛、祛风除湿的功效,用于治疗软组织挫伤、风湿腰痛等病症。收载于部颁标准(WS3-B-1114-92),由于部颁标准中没有含量测定项,为了提高制剂的质量标准,本文采用药典方法对方剂药物中有效成分盐酸小檗碱的含量进行了测定^[1]。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(Agilent G1311A 泵、Agilent G1316A 紫外检测器、Agilent G1313A 自动进样器);SL4001N 型电子天平(上海民桥精密科技仪器有限公司),超声波振荡器(功率 100 W,频率 40 kHz),盐酸小檗碱对照品(购自中国药品生物制品检定所,批号 110713-200911),田七跌打风湿软膏(惠州九惠制药公司提供,批号 20040601,20040602,20040603),乙腈为色谱纯(天津市康德科技有限公司),水为双蒸水,其他试剂为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件 Agilent Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钠溶液(用磷酸调节 pH 3.0)(25:75)为流动相,检测波长 265 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温为 20 °C。理论板数按盐酸小檗碱计不低于 3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,用甲醇-盐酸(100:1)制成每 1 mL 含 218.7 μg 的溶液,即得。

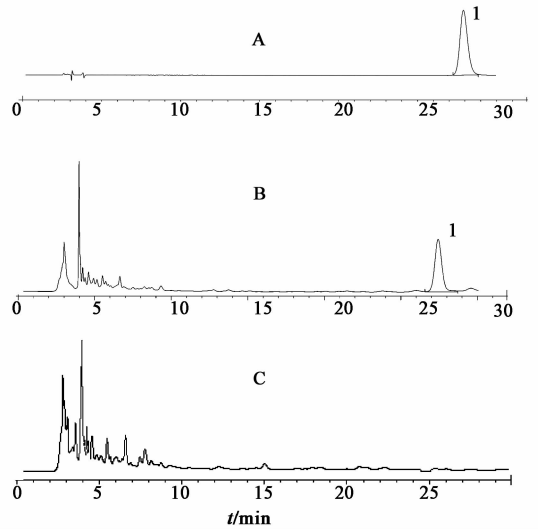
2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物适量,精密称取 2.306 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇-盐酸(100:1)的混合溶液 20 mL,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz)1 h,放冷,滤过,自滤器上加甲醇-盐酸(100:1)的混合液并定容至 25 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.2.3 阴性溶液的制备 按田七跌打风湿软膏的制备方法,制备不含黄柏的阴性样品,按 2.2.2 项下操作,制得阴性样品溶液。

3 结果

3.1 专属性考察 精密吸取对照品溶液 1 μL、供试品溶液 10 μL 和阴性溶液 10 μL 注入高效液相色

谱仪,检测,可见盐酸小檗碱在 27 min 左右出现特征吸收峰,而阴性溶液无吸收峰,说明该方法专属性良好,见图 1。



A. 对照品; B. 样品; C. 缺黄柏阴性样品; 1. 盐酸小檗碱
图 1 田七跌打风湿软膏(盐酸小檗碱)HPLC

3.2 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 5.0 mL 加甲醇-盐酸(100:1)的混合溶液定容至 5 mL 量瓶中,各以 2 μL 进样,测得峰面积。以峰面积 X 为横坐标,质量 Y 为纵坐标,作标准曲线,回归得标准曲线 $Y = 0.0002X + 0.0071$ ($r = 0.9999$),表明盐酸小檗碱在 0.04374 ~ 0.4374 mg 与峰面积呈良好的线性关系。

3.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液 0.5 μL 进样,连续进样 6 次,测定,得到峰面积的 RSD 0.623%,表明仪器的精密度良好。

3.4 重复性试验 精密称取同一批号软膏 5 份样品,按 2.2.2 项下制成 6 份供试品溶液,精密吸取 1 μL 注入高效液相色谱仪,检测,测得峰面积,计算盐酸小檗碱的平均含量为 0.951 mg·g⁻¹, RSD 1.64%,表明实验重复性良好。

3.5 稳定性试验 精密称取样品,按 2.2.2 项下制成供试品溶液,分别在 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 进样 1 μL 测定,测得峰面积的 RSD 1.23%,表明供试品溶液在至少 24 h 内稳定。

3.6 加样回收率试验 精密称取 6 份已知含量(0.951 mg·g⁻¹)的样品各 1.37 g 分别置于 6 只锥

形瓶中,再分别精密加入盐酸小檗碱标准品 1.0 mg,摇匀,加入甲醇-盐酸(100:1)20 mL,超声处理 30 min,滤过,自过滤器上加甲醇-盐酸(100:1)并定容至 25 mL 量瓶中,各以 1 μ L 注入高效液相色谱仪测定含量,计算回收率,所得结果见表 1。

表 1 盐酸小檗碱加样回收率试验

称样量 /g	样品中 含量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.374	1.307	2.382	98.26		
1.374	1.306	2.395	99.50		
1.373	1.306	2.375	97.71		
1.374	1.307	2.429	102.6	99.34	1.73
1.375	1.307	2.390	98.97		
1.374	1.307	2.390	98.98		

注:对照品加入量均为 1.094 mg。

3.7 样品含量测定 精密称取样品,按 2.2.2 项下制成 3 份供试品溶液,分别以 1 μ L 注入高效液相色谱仪测定,测得平均峰面积为 415.9,计算,求得田七跌打风湿软膏中盐酸小檗碱的平均含量为 0.090 29 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 0.478%。

4 讨论

盐酸小檗碱含量测定方法中的流动相多采用磷酸或磷酸盐缓冲溶液(pH 3.0)提高分离效果^[2-6]。本文采用乙腈-0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调节 pH 3.0)(25:75)为流动相,对色谱柱的选择性小,多数品牌的 C_{18} 柱均适用,且盐酸小檗碱分离效果好,阴性无干扰,专属性强,可以作为制订田七跌打风湿软膏的质量标准参考。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:593.
- [2] 赵斐. HPLC 法测定清热化毒丸中盐酸小檗碱的含量[J]. 齐鲁药事,2011,11(30):646.
- [3] 丁大勇,张妍妍,高菲,等. 蛇柏妇炎栓提取及制备工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(23):25.
- [4] 黄凤婷,梁福尧,卢雪明,等. 高效液相色谱法测定痛风舒片中盐酸小檗碱的含量[J]. 江西中医药,2011,42(9):68.
- [5] 张莉,潘超. 高效液相色谱法同时测定二妙丸中盐酸小檗碱和黄柏碱的含量[J]. 中国新药杂志,2011,22(20):2262.
- [6] 蒋媛媛,戴秋香,彭余开,等. HPLC 法测定跌打酒中盐酸小檗碱的含量[J]. 卫生职业教育,2004,14(22):108.
- [7] 田雁钰. HPLC 法同时测定小儿肺热平胶囊中两组分含量[J]. 中国药师,2010,9(13):1350.
- [8] 刘征,高延宏. 盐酸小檗碱的含量测定方法研究[J]. 中国伤残医学,2010,18(3):38.
- [9] 周星,刘文林. 妇科止带片中盐酸小檗碱的含量测定[J]. 保健医学研究与实践,2009,6(1):39.
- [10] 尹宁宁,林永强,徐丽华. HPLC 法测定冰黄软膏中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国实用医药,2009,4(9):145.
- [11] 李嘉,邓治旭,龙杰超,等. 尿炎清片的鉴别及盐酸小檗碱的含量测定[J]. 华西药学杂志,2007,22(1):95.
- [12] 苏亚,卢敏. HPLC 法测定祛斑散中盐酸小檗碱的含量[J]. 海峡药学,2009,21(3):44.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅 2013 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药理学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,350 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。