

# HPLC 法测定复方仙鹤草肠炎片中盐酸小檗碱的含量

杨允辉\*

(河南商城县人民医院, 河南 商城 465350)

**[摘要]** 目的: 研究测定复方仙鹤草肠炎片中盐酸小檗碱的含量。方法: HPLC 法, 对复方仙鹤草肠炎片中的盐酸小檗碱进行含量测定。流动相: 乙腈-  $0.033 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾溶液(40: 60); 检测波长: 345 nm; 柱温:  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 流速:  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。结果: 盐酸小檗碱在  $0.264 \sim 2.112 \text{ } \mu\text{g}$  线形关系良好( $r = 0.99996$ ), 平均回收率为  $100.33\%$ ,  $\text{RSD} = 1.35\%$ 。结论: 本法简便、快速、准确, 可用于复方仙鹤草肠炎片的质量控制。

**[关键词]** 复方仙鹤草肠炎片; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)12-0023-02

复方仙鹤草肠炎片收载于《中国药典》, 由仙鹤草、黄连、木香、蝉蜕等中药组成, 具有清热燥湿, 健脾止泻的作用, 临床上用于脾虚湿热内蕴所致泄泻急迫, 泻而不爽, 急慢性肠炎证。黄连为方中主药之一, 其主要有效成分盐酸小檗碱具有抗炎、抗菌等多

方面的作用, 特别是对肠道疾病具有较好的治疗作用<sup>[1]</sup>。因此本研究, 采用高效液相色谱法对该方的盐酸小檗碱含量进行了测定, 从而达到控制本品质量的目的。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器, Agilent 1100 化学工作站。水为重蒸馏水, 乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

对照品盐酸小檗碱(供含量测定用, 批号 0713-

**[收稿日期]** 2009-04-08

**[通讯作者]** \* 杨允辉, Tel: (0376) 7939188; E-mail: yangyunhui890@163.com

200107) 由中国生物制品检定所提供。复方仙鹤草肠炎片(批号 050324, 050325, 050326) 由鹤壁市中药有限公司提供。

## 2 实验方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品适量, 加甲醇制成  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液; 过微孔滤膜( $0.45 \mu\text{m}$ ), 备用。

**2.2 供试品溶液的制备** 取本品 20 片, 研细, 混匀, 取约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇(1:100) 混合溶液 15 mL, 密塞, 称定重量, 超声提取 20 min, 放冷, 再称定重量, 用以上混合溶剂补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过微孔滤膜( $0.45 \mu\text{m}$ ), 即得。

**2.3 阴性对照溶液的制备** 按处方比例去掉黄连, 制备成缺黄连的阴性对照样品, 按供试品溶液的制备方法制备成阴性对照溶液。

**2.4 色谱条件** 色谱柱: Kromasil  $\text{C}_{18}$  柱( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈-  $0.033 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾溶液(40:60); 检测波长: 345 nm; 柱温:  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 流速:  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。在此条件下复方仙鹤草肠炎片中盐酸小檗碱与其他组分均能达到基线分离, 分离度大于 1.5 (见图 1)。而阴性样品在盐酸小檗碱位置无吸收峰, 理论板数按盐酸小檗碱峰计算不低于 2000。

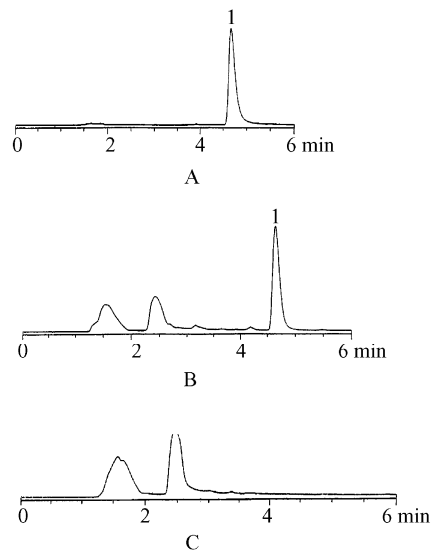
**2.5 线性关系考察** 精密称取盐酸小檗碱对照品, 分别制成 0.026 4, 0.052 8, 0.105 6, 0.158 4, 0.211 2  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液, 精密吸取不同浓度对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件依法测定峰面积, 以对照品溶液的浓度为横坐标, 以峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为:  $Y = 34\,321.669\,46X - 12.793\,09$ , 相关系数  $r = 0.999\,96$ 。表明盐酸小檗碱在 0.264~2.112  $\mu\text{g}$  线性关系良好。

**2.6 精密度试验** 取同一样品供试品试液, 重复进样 5 次, 结果盐酸小檗碱峰面积积分值的 RSD 为 0.54%。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 依法测定, 由峰面积积分值统计结果可见供试品溶液在 24 h 内保持稳定,  $\text{RSD} = 0.17\%$ 。

**2.8 重复性试验** 取同一批号供试品(批号 050324) 适量, 研细, 依法制备成 6 份供试品溶液, 依法测定, 结果盐酸小檗碱 6 次测定值的相对标准偏差为 0.51%。

**2.9 加样回收试验** 精密称取已知含量的供试品



A-对照品色谱图; B-样品色谱图;  
C-阴性样品色谱图; 1-盐酸小檗碱

图 1 复方仙鹤草肠炎片的 HPLC 色谱图

(批号 050324) 适量, 研细, 取 0.05 g, 精密称定, 共取 6 份, 分别精密加入盐酸小檗碱对照品适量, 按供试品溶液制备方法制备样品, 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 依法测定盐酸小檗碱峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。

**2.10 样品测定** 按照供试品溶液制备方法, 并对 10 批中试产品进行含量测定, 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 依法测定, 盐酸小檗碱含量在 9.618~10.438 mg/片之间。

表 1 加样回收试验结果

编号	称样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
1	0.049 8	1.225	0.735	1.966	100.82		
2	0.050 7	1.247	0.735	1.968	98.10		
3	0.050 3	1.238	1.217	2.466	100.90	100.33	1.35
4	0.051 1	1.258	1.217	2.466	99.26		
5	0.051 0	1.254	1.691	2.968	101.36		
6	0.050 8	1.249	1.691	2.966	101.54		

## 3 讨论

本研究色谱条件参照部颁标准康妇灵<sup>[2]</sup>项下盐酸小檗碱的测定方法进行, 并对不同超声提取时间 20, 30, 50 min 等进行了平行比较, 结果样品超声 20 min 基本提取完全。所采用的 HPLC 色谱分析方法, 可使盐酸小檗碱色谱峰分离较好, 且阴性样品无干扰。本研究测定方法经各项试验考察, 结果表明该方法灵敏可靠、重复性好, 可用于控制复方仙鹤草肠炎片中盐酸小檗碱的含量。

### [参考文献]

[1] 郝乘仪, 李妍, 张秀荣. 小檗碱药理作用研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2008, 29(5): 295-297.  
[2] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编[S]. 外科/妇科分册, 2002: 320.