

HPLC 法测定治糜灵凝胶剂中盐酸小檗碱的含量

张玲¹, 栾杰², 刘玠³, 李云涛^{1*}, 席珊珊¹

(1. 哈药集团世一堂制药厂, 黑龙江 哈尔滨 150088; 2. 黑龙江大庆油田总医院集团龙南医院, 黑龙江 大庆 163453; 3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 用 HPLC 法测定治糜灵凝胶剂中盐酸小檗碱的含量。方法: 样品经流动相超声提取, 使用 C₁₈ 色谱柱, 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (50: 50) 为流动相, 检测波长 265 nm, 流速 1 mL·min⁻¹。结果: 盐酸小檗碱线性范围 (0.025~1.25) μg, 相关系数 $r = 0.9999$, 平均回收率 100.7%。结论: 样品处理方法合理, 方法学考察符合定量要求, 结果准确, 可用于治糜灵凝胶剂中盐酸小檗碱的含量测定。

[关键词] 治糜灵凝胶剂; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)08-0006-02

治糜灵凝胶剂是在中药治糜灵栓的基础上研制的现代中成药, 处方由黄柏、苦参等药味组成, 具有清热燥湿、解毒消炎、去腐生肌之功能。用于子宫糜烂、感染性阴道炎、滴虫性阴道炎等。为了控制产品质量, 确保临床疗效, 本文用高效液相色谱法对主要药味黄柏的主要成分盐酸小檗碱进行含量测定。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, G1314A 可变波长检测器, G2170AA 色谱工作站(安捷伦科技有限公司), UV-2450 型紫外可见分光光度计(日本岛津), AS10200B 型超声波清洗仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); 色谱柱奥泰公司 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。乙腈为色谱纯(美国天力), 其它化学试剂均为分析纯(天津市科密欧化学试剂有限公司), 水为蒸馏水。盐酸小檗碱(批号 713-9003)由中国药品生物制品检定所提供, 治糜灵凝胶剂(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂奥泰公司 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (50: 50); 检测波长: 265 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹ [1]。

2.2 对照品溶液的制备 取在 100 °C 干燥 5 h 的盐

酸小檗碱对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解制成每 1 mL 含 0.1 mg 的盐酸小檗碱对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 2.1 项下所述的流动相 100 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 40 min, 放冷, 再称定重量, 用流动相补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得 [2]。

2.4 测定方法 分别精密吸取对照品溶液 5 μL 与供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。试验结果见图 1 2 3。

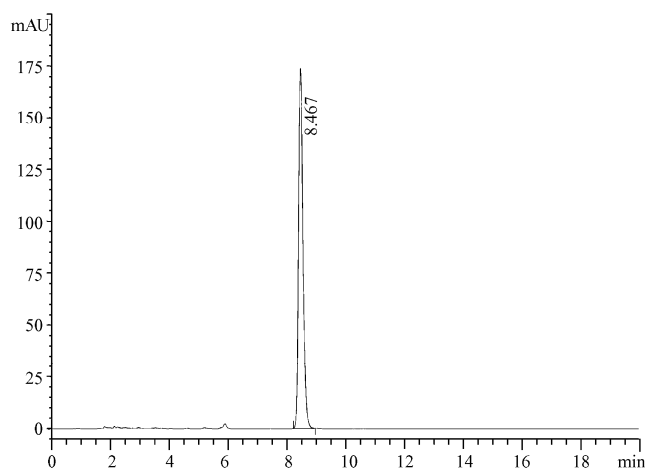


图 1 盐酸小檗碱对照品

2.5 线性关系的考察 精密称取在 100 °C 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品 12.50 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加入 2.1 项下所述的流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.50 mg·mL⁻¹ 的标准品贮备液。分别精密吸取上述浓度为 0.50 mg·mL⁻¹ 的标准品贮备液 2.5, 2.0, 1.0, 0.5 mL 分别置 5 mL 量瓶中, 加流动相

[收稿日期] 2009-01-07

[基金项目] 黑龙江省科学技术厅(GC05C60202)

[通讯作者] * 李云涛, Tel: (010) 86386380; E-mail: liyuntao.66@163.com

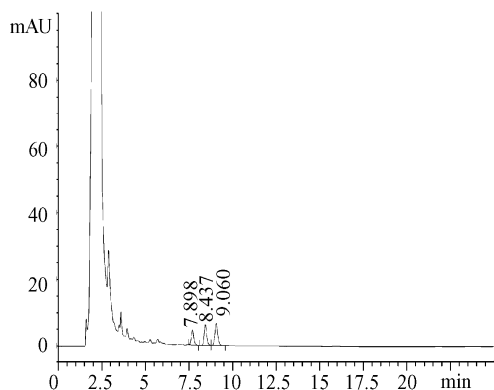


图 2 治糜灵凝胶剂样品

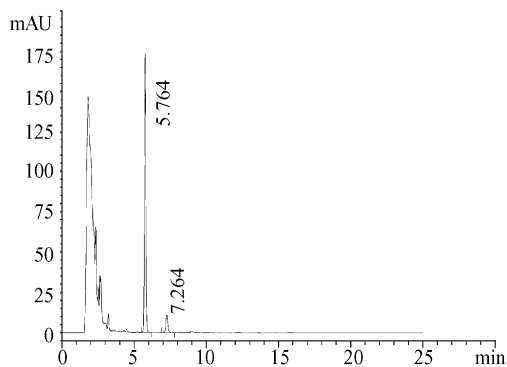


图 3 阴性

稀释至刻度, 摇匀, 分别制成每 1 mL 含盐酸小檗碱 0.25, 0.20, 0.10, 0.05 mg 的溶液, 再精密吸取贮备液 0.1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含盐酸小檗碱 0.005 mg 的溶液。分别精密吸取上述标准品溶液各 5 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以进样量为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程: $Y = 1.71 \times 10^4 X + 8.06$ ($r = 0.9999$), 结果表明, 盐酸小檗碱在 0.025 ~ 1.25 μ g 范围内, 进样量与峰面积积分值之间具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取上述 0.10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的对照品溶液 5 μ L 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 记录峰面积, 计算。RSD = 0.1%, 结果表明: 本品含量测定方法精密度较好。

2.7 稳定性试验 取本品 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 2.1 项下所述的流动相 100 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 40 min, 放冷, 称定补足重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 分别于第 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 峰面积, RSD = 0.8%, 结果表明, 供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收试验 精密称取 6 份样品(含量 0.064 5 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 每份 2.5 g, 精密称定, 分别加入盐酸小檗碱对照品, 精密加入流动相 100 mL, 称定,

超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 40 min, 放冷, 再称定重量, 用流动相补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。分别精密吸取上述溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。结果平均回收率为 100.7%, RSD = 0.9%。表明加样回收率良好。见表 1。

表 1 加样回收率结果

样品称样重(g)	样品中含量(mg)	加入对照品量(mg)	实测量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
2.573 6	0.166 0	0.170 4	0.337 6	100.70		
2.593 8	0.167 3	0.172 1	0.338 8	99.65		
2.674 4	0.172 5	0.186 0	0.358 0	99.73	100.7	0.9
2.686 8	0.173 3	0.184 5	0.359 0	100.65		
2.694 6	0.173 8	0.182 2	0.358 8	101.54		
2.699 2	0.174 1	0.188 6	0.366 0	101.75		

2.9 重复性实验 取同一批号的治糜灵凝胶剂, 按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备 6 份样品, 色谱条件如 2.1 项下所述, 测得含量分别为 0.07, 0.06, 0.06, 0.07, 0.07, 0.06 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。计算 RSD = 0.9%, 说明重复性较好。

2.10 样品测定 按 2.3 项下供试品溶液测定方法测定 3 批样品中盐酸小檗碱的含量, 测定结果分别为 0.06, 0.07, 0.06 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

3 讨论

3.1 检测波长的选择 盐酸小檗碱对照品溶液在 (190~ 700) nm 波长范围内, 最大吸收波长为 265 nm, 故本试验选择 265 nm 作为检测波长。

3.2 流动相的确定 在上述色谱条件下, 本试验选择了不同比例的流动相: 乙腈-0.05 $\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 磷酸二氢钠 (43: 57)^[3] 和乙腈-0.05 $\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 磷酸二氢钠 (40: 60)、乙腈-0.1% 磷酸 (50: 50), 结果表明乙腈-0.1% 磷酸 (50: 50), 分离效果最好。

3.3 提取方法的选择 本试验分别采用了流动相超声处理 20, 40 min 及流动相加热回流 40 min 3 种方法的比较试验, 结果表明流动相超声处理 40 min 的提取效果最好。

[参考文献]

[1] 祝晨藤. HPLC 法测定黄柏药材中小檗碱与黄柏碱的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(4): 78.
[2] 黄海卫. 川黄柏中盐酸小檗碱的含量测定研究[J]. 湖南中医药导报, 2003, 9(4): 48.
[3] 刑俊波. 高效液相色谱法测定黄柏及其制剂中盐酸小檗碱含量的研究[J]. 中医药学刊, 2003, 21(11): 129.