

HPLC法测定左金丸中小檗碱的含量

周 晖*

(温州市药品检验所,浙江 温州 325000)

左金丸由黄连与吴茱萸组成,用于泻火疏肝、和胃止痛,是最常用的中成药之一,收载于《中华人民共和国药典》2000年版一部。原标准采用回流提取柱色谱、分光光度法测定总生物碱(以盐酸小檗碱计),十分繁琐。本实验建立 HPLC法测定盐酸小檗碱含量,专属性好,方法简便、准确。

1 仪器和试剂

LG-6A 高效液相色谱仪,SPD-6AV 紫外检测器。盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所),乙腈(色谱纯),其他试剂均为分析纯。左金丸(市售)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 CLC-ODS C_{18} 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μ m)(Shim-pack),流动相为 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈(75:25),检测波长 350 nm,灵敏度为 0.1 AUFS,柱温为室温,进样量为 20 μ L,流速为 1.0 mL/min。理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 3 000。色谱图见图 1。

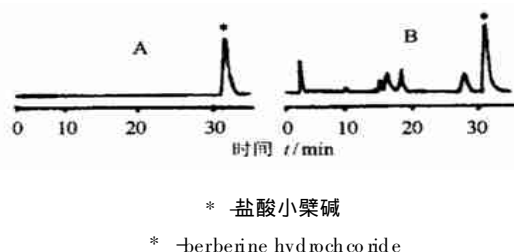


图 1 盐酸小檗碱对照品(A)与左金丸(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of berberine hydrochloride (A) and Zuojin Pill (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取在 100℃干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品约 30 mg,置 100 mL 量瓶中,加水-盐酸(100:1)适量,超声 10 min 使溶解,放冷,加水-盐酸(100:1)至刻度,摇匀。精密量取 2 mL,置 25 mL 量瓶中,用水-盐酸(100:1)稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取左金丸适量研细(过 3

号筛),取 1 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加水-盐酸(100:1)适量,超声 20 min 使溶解,放冷,加水-盐酸(100:1)至刻度,摇匀,离心。精密量取上清液 2 mL,置 25 mL 量瓶中,用水-盐酸(100:1)稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察:精密吸取稀释前的对照品溶液(0.3 mg/mL)0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL,置 25 mL 量瓶中,用水-盐酸(100:1)稀释至刻度,摇匀,按上述色谱条件测定盐酸小檗碱吸收峰面积。以浓度(C)对峰面积(A)进行线性回归,得方程: $A = 39\,923C - 9\,651$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明:盐酸小檗碱在 3~48 μ g/mL 与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取同批供试品溶液注入高效液相色谱仪,于同一日内重复进样 6 次,测定盐酸小檗碱峰面积,结果 RSD 为 0.61%。

2.6 稳定性试验:取同批供试品溶液分别于 0, 5, 9, 24, 36, 48 h 注入高效液相色谱仪,测定盐酸小檗碱峰面积,结果 RSD 为 0.87%。

2.7 重现性试验:精密称取同一批供试品 6 份,按供试品溶液制备法制备,并按 2.1 项色谱条件测试,盐酸小檗碱含量 RSD 为 1.70%。

2.8 回收率试验:采用加样回收率法。取已知含量的同批左金丸粉末 0.5 g,精密称定,精密加入盐酸小檗碱对照品,按供试品溶液制备法制备,并按 2.1 项色谱条件测试。结果平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.2% ($n = 6$)。

2.9 样品测定:取 4 个厂家样品 8 批,按供试品溶液制备法制备,并按 2.1 项色谱条件测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 参考文献,比较不同的紫外检测波长和流动相,结果表明 350 nm 为检测波长,0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈(75:25)为流动相,分离效果较好。

3.2 供试品的提取考察了不同的溶剂和超声处理时间。结果表明以水为溶剂盐酸小檗碱的提取含量

* 收稿日期: 2003-01-08

作者简介:周 晖(1963-),女,浙江省温州市人,副主任药师,1983年毕业于浙江医科大学药学专业,一直从事药品检验、分析工作。

Tel (0577) 88539032

表 1 左金丸中小檗碱 HPLC与药典法测定结果 ($n=3$)

Table 1 Content berberine in Zuojin Pill by HPLC and *Ch P's* method ($n=3$)

厂家 (批号)	小檗碱含量 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	药典法 (盐酸小檗碱计)	HPLC法
A (021203)	77.8	40.8
A (030103)	77.4	41.4
A (030604)	78.3	41.7
B (021002)	72.1	35.9
B (030301)	70.0	31.2
C (020301)	81.0	45.8
C (030102)	84.0	47.2
D (030212)	64.0	27.9

较低,以甲醇-盐酸 (100:1)为溶剂盐酸小檗碱色谱峰与其他干扰组分色谱峰的分离效果不好,以水-盐酸 (100:1)为溶剂效果最佳。而超声提取时间从 20 min到 120min差异无显著,故选择 20 min为供试品提取时间。

3.3 不同厂家的左金丸,采用 HPLC法测定盐酸小檗碱的含量结果差异较大,A、C厂家在 40 mg/g 以上,B厂家在 30~40 mg/g,D厂家低于 30 mg/g。

3.4 本方法与药典法比较专属性好,简便、准确、重复性好,确定合适的限度范围后,可作为左金丸的定量方法。

HPLC法测定益尔力口服液中淫羊藿苷的含量

涂 禾,张世明,郑 桅,闵本初*

(国家体育总局成都运动创伤研究所,四川 成都 610041)

益尔力口服液为著名运动医学专家郑怀贤教授经验方经过系统的药物研究后制成的运动补剂。具有益气、补肝肾、强筋骨、畅血脉等功效,可用于改善人体机能,提高运动能力,消除运动性疲劳。益尔力口服液以人参、黄芪、淫羊藿、三七、丹参、宁夏枸杞、红毛五加、佛手等 10味药材为原料提取制得。为控制其质量,本实验采用 HPLC法测定其中淫羊藿苷的含量。

1 仪器与试剂

Waters HPLC 仪,680自动控制器,484可见-紫外发光检测仪,745B数据处理机。

淫羊藿苷对照品由中国药品生物制品检定所提供,水为高纯水,其他试剂均为分析纯。益尔力口服液由国家体育总局成都运动创伤研究所提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Symmetry C₁₈ (3.9 mm×150 mm, 5 μm); 预柱: MbondpakTM C₁₈ Gurd-pakTM; 流动相: 乙腈-甲醇-0.1 mol/L磷酸二氢钠溶液 (6:50:50); 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 270 nm。

2.2 供试品溶液的制备: 精密量取益尔力口服液 50.0 mL,水浴浓缩至 10 mL,加甲醇 50 mL沉淀杂质。高速离心 (10 000 r/min) 5 min,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液浓缩至 10 mL。再加甲醇 50 mL

沉淀杂质,高速离心 (10 000 r/min) 5 min,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,用甲醇定容至 100.0 mL,即得。

2.3 空白溶液的制备: 按处方组成,除去淫羊藿后的其余药味按处方比例和工艺制成口服液,按照供试品溶液的制备方法制备缺淫羊藿的空白溶液。

2.4 系统适应性考察: 在上述色谱条件下,淫羊藿苷保留时间约 6.8 min。理论塔板数按淫羊藿苷计不低于 1 200。空白溶液对测定无干扰。

2.5 线性关系考察: 精密量取淫羊藿对照品适量,配制 5.15, 10.30, 20.60, 41.20, 82.40 $\mu\text{g/mL}$ 淫羊藿苷对照品溶液,按上述方法测定峰面积。以淫羊藿苷浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标进行回归,得方程: $A=5 \times 10^5 + 5 \times 10^6 C$, $r=0.9999$ 。结果表明: 淫羊藿苷在 0.05~0.82 μg 与峰面积成良好的线性关系。

2.6 重现性试验: 按拟定的方法测定同一批供试品 (批号 990119) 6份,结果淫羊藿苷峰面积 RSD为 1.02%。

2.7 稳定性试验: 取同批样品按供试品溶液的制备方法操作,每间隔 6 h测定淫羊藿苷的峰面积,结果其 RSD为 0.98% ($n=3$)。

2.8 回收率试验: 采用加样回收法。取已知含量 (含淫羊藿苷 6.75 μg)的供试品 5份,分别准确加入不同量的淫羊藿苷对照品溶液,按拟定方法测定,计算