

- cal by capillary electrophoresis and studies on hydroxyl radical scavenging activities of Chinese herbs [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 376: 691-695.
- [4] Tong Y, Ye Z G. The content of flavone in *Apocynum venetum* and *Poacynum hendersonii* (Hook. f.) Woodson and its anti-lipid peroxidative mechanism [J]. *Foreign Med Sci; Tradit Chin Med* (国外医学中医中药分册), 1996, 18(1): 49.
- [5] Xu L, Chao Z M. Anti-lipid peroxidative actions of apocynum venetum leaf extract [J]. *Foreign Med Sci; Tradit Chin Med* (国外医学: 中医中药分册), 1998, 20(4): 54.
- [6] Fan W G, Xie C X, Li F, Ainken A. Determination of the content of total flavonoids in *Apocynum venetum* L. [J]. *Chin J Spectrosc Lab* (光谱实验室), 2005, 22(3): 464-466.
- [7] Pang Z J, Zhou J, Cheng A. *Study Methods of Free Radical Medicine* (自由基医学研究方法) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [8] Zhao B L, Shen J G, Li M, et al. Scavenging effect of chinonin on NO and oxygen free radicals and its protective effect on the myocardium from the injury of ischemia-reperfusion [J]. *Biochim Biophys. Acta*, 1995, 1315: 131-137.
- [9] Borutaite V, Brow G C. Rapid reduction of nitric oxide by mitochondria, and reversible inhibition of mitochondrial respiration by nitric oxide [J]. *Biochem J*, 1996, 315: 295-299.
- [10] Yan X H, Gu J F, Sun C P, et al. Anti-lipid peroxidative actions of soybean isoflavones and their mechanism [J]. *J Prev Med Chin PLA* (解放军预防医学杂志), 2000, 18(1): 14-17.

HPLC 法测定障眼明片中盐酸小檗碱

丘文珍

(广州中一药业有限公司, 广东 广州 510000)

障眼明片由黄柏、山茱萸、黄芪、菊花、枸杞子、熟地黄、密蒙花、黄精、党参等 22 味中药组成, 能补益肝肾, 退翳明目, 用于初期及中期老年性白内障。黄柏在方中起了重要作用, 而盐酸小檗碱是黄柏主要成分。原标准是采用薄层扫描法进行质量控制, 方法的专属性比较差。因此, 本实验建立 HPLC 法测定盐酸小檗碱, 以期能更好地对本品进行质量控制。

1 仪器与试剂

HP-1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, HP 化学工作站。甲醇为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 盐酸小檗碱对照品 (批号: 110713-200208) 由中国药品生物制品检定所提供, 障眼明片为本公司产品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: 汉邦科技 Lichrospher (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (50:50, 每 100 mL 混合液中加 0.1 g 十二烷基磺酸钠^[1]); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 265 nm; 柱温: 35 ℃。理论板数以盐酸小檗碱峰计算不低于 10 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 加甲醇溶解, 使质量浓度为 59.88 μg/mL。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去包薄膜衣, 研细, 精密称取 1 g 置三角瓶中, 加入体积分数为 0.1% 盐酸 2 mL, 充分润湿后放置 10 min, 加甲醇 100 mL, 超声处理 30 min, 取出, 静置过夜, 摇匀, 滤过, 加甲醇适量洗涤三角瓶, 滤过, 合并滤液, 水浴蒸干, 残渣加水 2 mL 充分润湿, 加无水乙醇 10 mL 使溶解, 上中性氧化铝柱 (105 ℃ 活化 1 h, 100~200 目, 16 g, 内径 2 cm), 用 250 mL 无水乙醇洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解并定容至 2 mL, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备: 按处方制备不含黄柏药材的样品, 同法制成阴性对照溶液。

2.3 方法可行性考察: 取对照品溶液、阴性对照溶液和供试品溶液, 在上述色谱条件下进样 10 μL, 结果见图 1。可见阴性对照对盐酸小檗碱测定无干扰。

2.4 线性关系的考察: 精密吸取 59.88 μg/mL 盐酸小檗碱对照品溶液, 各进样 3、6、9、12、15 μL, 测定峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 3625.9X - 2.4141$, $r = 0.99996$, 线

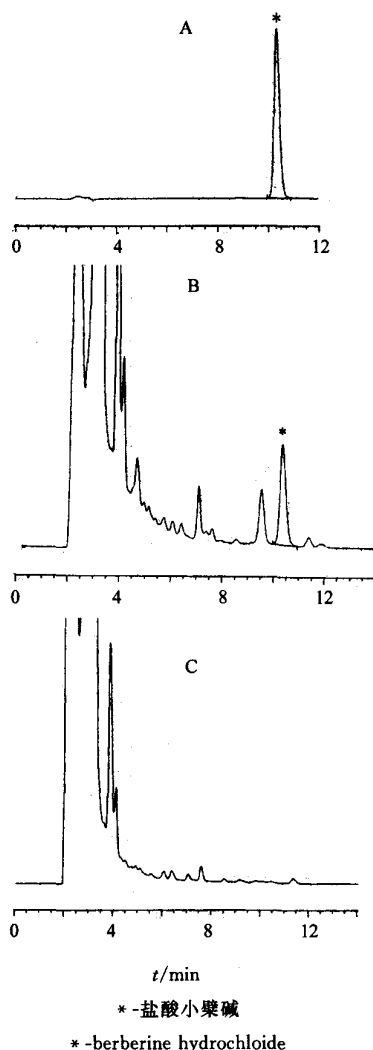


图1 盐酸小檗碱对照品(A)、障眼明片(B)和阴性对照(C)的HPLC图谱

Fig.1 HPLC Chromatograms of berberine hydrochloride reference substance (A), Zhangyanming Tablets (B), and negative sample (C)

性范围为0.179 64~0.898 20 μg 。

2.5 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液按上述条件重复进样5次,测定峰面积,计算,结果盐酸小檗碱峰面积的RSD为0.82%。

2.6 重现性试验:取同一批样品5份,制备供试品溶液,进样,测定峰面积,计算盐酸小檗碱的质量分数,结果RSD为1.3%。

2.7 稳定性试验:精密量取同一供试品溶液,每隔1 h进样1次,共测定6次,以盐酸小檗碱峰面积计算,结果表明,供试品溶液在5 h内稳定,盐酸小檗碱峰面积的RSD为1.1%。

2.8 回收率试验:分别精密称取含盐酸小檗碱0.112 3 mg/g的障眼明片6份,各约0.5 g,精密加入0.059 88 mg/mL盐酸小檗碱对照品溶液1 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得其平均回收率为99.34%,RSD为1.2%。

2.9 样品测定:取3批样品,制备供试品溶液,进样测定峰面积值,带入回归方程计算盐酸小檗碱的质量分数,结果见表1。

表1 障眼明片中盐酸小檗碱的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of berberine hydrochloride in Zhangyanming Tablets ($n=3$)

批号	盐酸小檗碱/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/%
J01002	0.112 3	0.86
J01004	0.085 9	1.10
J01006	0.100 2	1.03

3 讨论

通过对多批障眼明片采用HPLC法测定盐酸小檗碱,结果表明方法误差较少,准确度提高,为障眼明片质量控制提供了保证,可作为障眼明片质量控制标准。

欢迎订阅《中草药》杂志 2001—2006 年增刊

为了扩大学术交流,提高新药研究水平,经国家科技部同意,我部从1996年起,每年出版增刊一册。

2001年第32卷增刊 特邀了中国工程院院士、专家就加快中药现代化的进程,我国入世后中药产业的发展新对策及西部药用植物资源的保护、开发和利用等撰写综述文章。共刊载论文140多篇。

2002年第33卷增刊 以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容,刊载论文107篇。

2003年第34卷增刊 包括中药创新药物开发的思路和方法;中药现代化研究;有关中药知识产权保护和中药专利的申请等内容,共刊载论文176篇。

2004年第35卷增刊 以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容,共刊载论文120篇。

2005年第36卷增刊 以中药现代化和中药走向国际等热点为主要内容,共刊载论文150余篇。

2006年第37卷增刊 以药理会议专栏及中药现代化和国际化,包括药材资源种植和可持续利用、提取工艺技术、质量控制、疗效评价、中药理论和中药产业管理现代化等方面内容,共刊载论文135篇,摘要88篇。

以上各卷增刊选题广泛、内容新颖、学术水平高、科学性强,欢迎广大读者订阅。以上增刊为我部自办发行,邮局订阅《中草药》不含增刊,但能提供订阅凭证者,购买增刊7折优惠,款到寄刊。