

# HPLC法测定花蛇解痒片中盐酸小檗碱的含量

## Determination of Berberine Hydrochloride in Huashe Jieyang Tablets by HPLC

曾祥林<sup>1</sup>, 梁佳<sup>2</sup>ZEN G Xiang-lin<sup>1</sup>, LIANG Jia<sup>2</sup>

(1. 广西食品药品检验所, 广西南宁 530021; 2. 广西中医学院, 广西南宁 530001)

(1. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning, Guangxi, 530021, China; 2. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530001, China)

**摘要:** 建立 HPLC法测定花蛇解痒片中盐酸小檗碱含量的方法。方法是采用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱; 以乙腈: 0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 (磷酸调 pH 值 2.8)= 28.5: 71.5 为流动相, 流速 1.0ml/min, 检测波长 265nm, 进样量 10 $\mu$ l; 柱温为室温。结果盐酸小檗碱进样量在 0.0421~ 0.4208 $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系 ( $r = 0.9998$ )。精密密度试验的 RSD 为 0.33%, 重复性试验的 RSD 为 0.93%, 加样回收试验的平均回收率为 98.74%, RSD = 1.19% ( $n = 6$ )。该方法测定 10 批样品的盐酸小檗碱平均含量为每片 0.39mg, 与标准中拟定的 0.3mg 相近。该方法简便、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

**关键词:** 盐酸小檗碱 花蛇解痒片 HPLC

中图分类号: O657.72, R284 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2009)04-0435-03

**Abstract** A method of determination for Huashe Jieyang tablets is given. Hypersil by HPLC is employed. ODS2 column, acetonitrile-0.05mol/L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate solution is employed and pH value was adjusted to 2.8 with phosphoric acid (28.5: 71.5) as mobile phase, the flow rate was 1.0 ml<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> and 265nm as ultraviolet detection wavelength, column temperature is room temperature and injection volume is 10 $\mu$ l. The calibration curve of berberine hydrochloride showed a good linearity within the range of 0.0421~ 0.4208 $\mu$ g,  $r = 0.9998$ . The average recovery was 98.74% and RSD was 1.12% ( $n = 6$ ). The method is simple, rapid and specific with accurate and reliable results, which can be used to control the quality of products effectively.

**Key words** berberine hydrochloride, Huashe Jieyang tablets, HPLC

花蛇解痒片是由漆大姑、乌梢蛇、黄柏、金银花、连翘等 16 味中药制成的复方制剂, 具有祛风清热、凉血止痒的功能。花蛇解痒片用于血热风盛证之痒痒病。花蛇解痒片原质量标准<sup>[1]</sup>中仅对个别成分作了薄层定性鉴别, 未规定含量测定指标。花蛇解痒片的主药黄柏含盐酸小檗碱成分, 盐酸小檗碱是其有效成分之一。中国药典规定了黄柏药材含小檗碱的限量不得少于 3.0%<sup>[2]</sup>。因此测定花蛇解痒片中盐酸小檗碱的含量, 可以作为质量控制的指标之一。盐酸小檗碱的含量测定有薄层扫描法<sup>[3]</sup>和高效液相色谱法<sup>[4]</sup>等。经

实验及方法学考察, 本文采用 HPLC 法测定花蛇解痒片中盐酸小檗碱的含量, 方法操作方便, 专属性强, 可以用于该品种的质量控制。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

仪器: 日本岛津公司 LC-10A 高效液相色谱仪; SPD-10A 紫外检测器; 威玛通用多媒体色谱数据工作站。试剂: 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余所用试剂均为分析纯。盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 批号 110713-200208), 花蛇解痒片及缺黄柏的阴性对照品 (北海中联药业有限责任公司提供) 10 批。

收稿日期: 2009-05-07

修回日期: 2009-06-18

作者简介: 曾祥林 (1957-), 男, 副主任药师, 主要从事药品检验及药品质量标准研究工作。

## 1.2 色谱条件与系统适用性实验

### 1.2.1 色谱条件

色谱柱: 十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱 (4.6mm × 250mm, 5mm), 流动相: 乙腈: 0.05mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钠溶液 (磷酸调 pH值 2.8) = 28.5: 71.5; 流速: 1.0ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 265nm, 柱温: 室温 理论板数 (n)按盐酸小檗碱计算, 应不低于 5000, 进样量为 10ml

### 1.2.2 系统适用性实验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10μl, 在上述色谱条件下, 进样测定, 记录色谱 (图 1)。供试品中盐酸小檗碱色谱峰与对照品色谱峰保留时间一致, 并与其它共存成分分离度大于 1.5, 达到基线分离。缺黄柏阴性溶液在盐酸小檗碱色谱峰相应位置上无干扰峰出现。

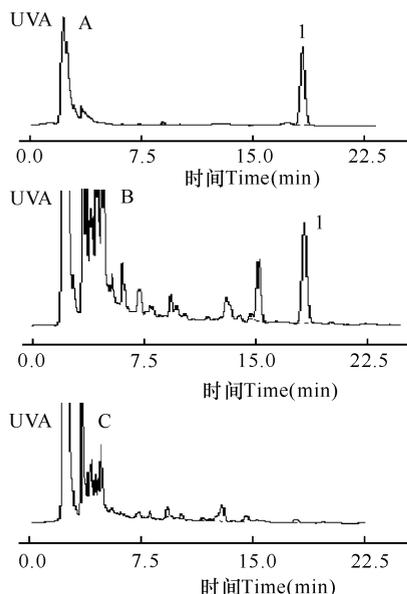


图 1 盐酸小檗碱对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性溶液 (C) 色谱

Fig. 1 Chromatograms of reference substance of berberine hydrochloride (A), sample solution (B) and negative solution without berberine hydrochloride (C)

## 1.3 溶液的制备

### 1.3.1 对照品溶液制备

精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 加盐酸-甲醇制成每 1ml 含 12mg 的溶液, 即得。

### 1.3.2 供试品溶液制备

取花蛇解痒片样品 10 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取 0.8g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇混合溶液 50ml, 称定重量, 于 55°C 水浴中加热 15min, 取出, 放冷, 超声处理 45min, 放冷, 再称定重量, 用盐酸-甲醇混合溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤

过, 取续滤液, 即得。

### 1.3.3 阴性样品溶液制备

取缺黄柏的阴性对照样品, 按供试品溶液制备项下的方法提取, 结果阴性对照样品在盐酸小檗碱出峰位置有 1% 左右的吸收峰, 在允许范围内。

## 1.4 方法学考察

### 1.4.1 线性关系考察

精密称取盐酸小檗碱对照品 10.52mg, 置 50ml 量瓶中, 加盐酸-甲醇混合溶液使其溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.2104mg·ml<sup>-1</sup> 的对照品储备液。精密量取对照品储备液 10ml, 置 50ml 量瓶中, 加盐酸-甲醇混合溶液稀释至刻度, 精密量取 1ml、2ml、3ml、5ml、10ml, 分别置 10ml 量瓶中, 加盐酸-甲醇混合溶液稀释至刻度, 摇匀, 按拟定的色谱条件分别进样 10ml 测定。以盐酸小檗碱对照品进样量为横坐标 (X), 峰面积积分为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 回归方程为:  $Y = 3610551X - 15145.9$  ( $r = 0.9998$ ), 进样量在 0.0421~0.4208mg 范围内, 盐酸小檗碱进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 1.4.2 精密度实验

对批号 050506 的供试品溶液, 按拟定的色谱条件, 连续测定 5 次, 计算含量。结果 5 次测定的平均值为 0.7908mg·g<sup>-1</sup>, RSD 为 0.33% ( $n = 5$ ), 说明方法的精密度较好。

### 1.4.3 稳定性实验

对批号 050506 的供试品溶液, 每隔 2h 测定 1 次, 共测定 7 次, 结果 7 次测定的盐酸小檗碱含量的平均值为 0.7912mg·g<sup>-1</sup>, RSD 为 0.51% ( $n = 7$ ), 说明 12h 内被测物稳定。

### 1.4.4 加样回收实验

精密量取线性关系项下浓度为 0.2104mg·ml<sup>-1</sup> 盐酸小檗碱对照品储备液 15ml, 置 500ml 量瓶中, 加盐酸-甲醇混合液稀释至刻度, 摇匀, 作为浓度为 6.312mg·ml<sup>-1</sup> 对照品溶液, 精密称取稳定性试验项下的花蛇解痒片 (050506 批, 盐酸小檗碱含量为 0.7913mg·g<sup>-1</sup>) 约 0.4g, 平行取 6 份样, 分别精密加入盐酸小檗碱对照品溶液 50ml, 按拟定的方法提取、测定, 计算盐酸小檗碱的平均回收率为 98.74%,  $RSD = 1.19%$  ( $n = 6$ ), 符合定量分析的要求。

## 2 样品含量测定

按照供试品含量测定方法, 测定了 10 批样品中的盐酸小檗碱含量, 结果 (表 1) 10 批样品的平均值为每片 0.39mg, 与标准中拟定的每片 0.3mg 相近。

样品提取条件的选择比较了于 55°C 水浴中加热

后再分别超声 30min, 45min, 60min 测定结果(表 2)表明于 55℃水浴中加热 15min后再超声处理 45min 提取效率最佳。

表 1 样品含量测定

Table 1 Results of contents of berberine hydrochloride

批号 Lot no.	盐酸小檗碱含量 Contents of berberine hydrochloride(毫克·片 <sup>-1</sup> )		
	1	2	平均 Mean
050307	0.32	0.36	0.34
050308	0.42	0.40	0.41
050309	0.34	0.32	0.33
050420	0.38	0.36	0.37
050421	0.45	0.41	0.43
050422	0.36	0.35	0.36
050423	0.36	0.34	0.35
050506	0.41	0.38	0.40
050507	0.46	0.52	0.49
050508	0.48	0.42	0.45

表 2 提取时间考察比较

Table 2 The comparation of extract time

序号 Lot no.	55℃加热 时间 Time be heaten in 55℃ (min)	超声处理 时间 Time of ultrasonication (min)	盐酸小檗碱总量 Contents of berberine hydrochloride (mg·g <sup>-1</sup> )
1	15	30	0.74
2	15	45	0.79
3	15	60	0.79

### 3 结束语

本文采用 HPLC法测定花蛇解痒片中盐酸小檗碱的含量。盐酸小檗碱进样量在 0.0421~ 0.4208 μg 范围内呈良好的线性关系 ( $r = 0.9998$ )。方法的精密和重复性试验的 RSD 分别为 0.33% 和 0.93%。加样回收试验的平均回收率为 98.74%, RSD 为 1.19%。用该方法测定 10 批样品时盐酸小檗碱的平均含量为每片 0.39mg, 与标准中拟定的每片 0.3mg 相近。该方法简便、可靠准确, 可以用于该制剂的质量控制。

#### 参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局. 国家标准 [S]. W S-10651-(ZD-0651)-2002.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典 2005 年版: 一部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 214.
- [3] 马成花. 薄层扫描法测定利舒康胶囊中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(8): 1042.
- [4] 黄浩, 闻永举, 南建忠. HPLC 法测定妇炎平泡腾片中盐酸小檗碱的含量 [J]. 解放军药学报, 2008, 24(6): 540.

(责任编辑: 邓大玉)

(上接第 434 页 Continue from page 434)

- [2] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮药质量标准 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008. 188.
- [3] Lu Wenjie, Jian Zou, Chen Jiayuan, et al. Two new compounds from *Cleidion brevipetiolatum* [J]. *Fitoterapia*, 2007, 78: 614-616.
- [4] Peng Ju, Wang Yifen, Wang Qiong, et al. A new ellagitannin from *Cleidion bracteosum* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2007, 18: 291-292.
- [5] 李翠红, 羊晓东, 赵静峰, 等. 棒柄花的化学成分研究 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2005, 27(3): 249-250.
- [6] 李翠红, 周红娇, 羊晓东, 等. 棒柄花的化学成分研究

- [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(6): 514-515.
- [7] 吴少华, 沈月毛, 陈有为, 等. 滑桃树茎皮的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(13): 1566-1568.
- [8] 田海卿, 鲍光明, 季乃云, 等. 红树林海漆中的三萜和甾体化合物 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 405-408.
- [9] 杨淑敏, 刘锡葵, 卿晨, 等. 水杨柳根的化学成分 [J]. 药学报, 2007, 42(3): 292-296.
- [10] 吴志平, 陈雨, 王鸣, 等. 葱莲的化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(10): 1508-1510.

(责任编辑: 邓大玉)