

HPLC 测定止泻保童颗粒中盐酸小檗碱的含量

解世全¹, 田芳¹, 窦德强^{1*}, 王丽萍², 王燕文³

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116620; 2. 辽宁省人民医院, 辽宁 沈阳 110016; 3. 吉林省白城市中心医院药剂科, 吉林 白城 137000)

[摘要] 目的: 为控制止泻保童颗粒的质量, 考察了高效液相色谱法测定止泻保童颗粒中盐酸小檗碱的含量。方法: 色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 柱温 25℃, 以甲醇-磷酸三乙胺水溶液(30:70)为流动相, 检测波长为 350nm。结果: 盐酸小檗碱的加样回收率为 97.1%, RSD = 1.69%。结论: 该法快速、简便、准确为制剂的质量控制提供了可行的分析方法。

[关键词] 止泻保童颗粒; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱法

止泻保童颗粒是由黄连、人参、白术、茯苓、木香等 22 味中药组成, 具有健脾止泻, 温中化痢功能^[1]。原部颁标准中无含量测定, 为提高其质量标准, 保证临床应用安全、质量可控, 参照文献方法^[2,3], 本文采用高效液相色谱法测定盐酸小檗碱含量, 为止泻保童颗粒的质量控制提供可行的分析方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器

日本岛津 LC-6A 液相色谱仪, CR-3A 记录仪, SPD-6AV 检测器, SIL-6A 自动进样器。

1.2 试药

甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯。盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0713-9906), 止泻保童颗粒(5g/袋, 实验室自制, 批号见表 2)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备

精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 加甲醇溶解, 制成每 1mL 含 0.015mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液制备

取本品 5g, 共 2 份, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 50mL, 称重, 超声处理(功率 250W, 频率 33KHz) 20min, 取出, 放冷, 称重, 加甲醇补足原重量, 滤过, 取续滤液, 经微孔滤膜(0.45μm)滤过, 溶液备用。

2.3 色谱条件与系统适应性

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 柱温 25℃;

以甲醇-磷酸三乙胺水溶液(30:70)为流动相(磷酸三乙胺水溶液配制方法: 1.7mL 磷酸与 1.8mL 三乙胺加水定容至 1000mL); 检测波长为 350nm; 理论塔板数按盐酸小檗碱色谱峰计算, 不得低于 6000。止泻保童颗粒 HPLC 图见图 1。

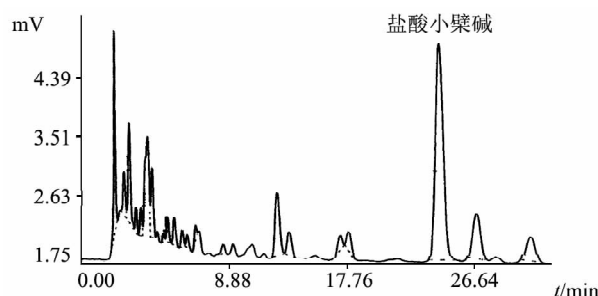


图 1 止泻保童颗粒 HPLC 图谱

2.4 阴性干扰试验

取除去黄连以外的其他药材, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。精密吸取供试品溶液、阴性对照品溶液、对照品溶液各 5μL 进样, 色谱图提示, 在对照品色谱相应的位置上(25.99min), 供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰, 阴性对照品溶液在此峰位无吸收, 对本品中盐酸小檗碱含量测定无干扰, 方法专属性良好, 见图 2。

2.5 线性范围

取盐酸小檗碱对照品溶液(0.015 58mg·mL⁻¹), 分别精密吸取 1, 3, 5, 7, 9, 11μL 溶液, 注入液相色谱仪中, 测定色谱峰面积, 计算得回归方程 Y =

[通讯作者] * 窦德强, Tel: (0411) 87549999-8019, E-mail: doudeqiang2003@yahoo.com.cn。

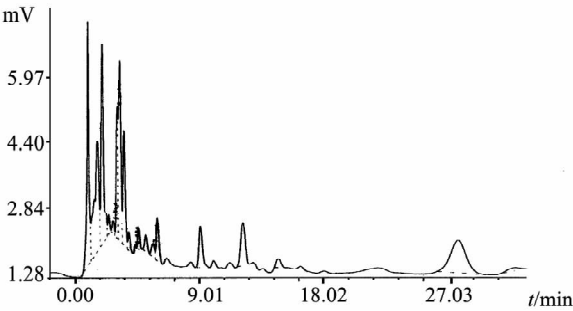


图2 止泻保童颗粒缺黄连的阴性对照品 HPLC 图

3 789 004.2X + 19 117.5, $r = 0.999\ 4$ 。由测定结果提示, 盐酸小檗碱进样量在 0.015 58 ~ 0.171 38 μg 线性关系良好。

2.6 稳定性试验

分别在 0, 2, 4, 6, 8h 时精密取同一供试液 5 μL , 进样分析, 色谱峰面积无明显变化, $\text{RSD} = 1.45\%$ 。说明在此时间内, 待测组分化学性质稳定。

2.7 精密度试验

分别精密吸取供试液 5 μL , 连续进样 5 次, $\text{RSD} = 1.8\%$, 测定结果表明精密度符合有关规定。

2.8 重复性试验

取 5 份样品粉末 5g 精密称定, 分别按样品含量测定方法操作, 测定, 结果 $\text{RSD} = 1.4\%$ 。

2.9 回收率试验

取 20020814 批止泻保童颗粒 5 份, 精密称取粉末 5g, 加入盐酸小檗碱对照品溶液(0.021 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 25mL, 精密加甲醇 25mL, 其他按样品含量测定方法操作, 结果见表 1。

表 1 盐酸小檗碱回收率试验测定结果					
序号	样品 含量/ mg	测得量 / mg	回收率 / $\%$	平均回 收率/ $\%$	RSD / $\%$
1	0.497 1	1.026	98.4		
2	0.512 8	1.025	95.3		
3	0.509 8	1.043	99.2	97.08	1.69
4	0.511 9	1.030	96.4		
5	0.538 5	1.055	96.1		

注: 盐酸小檗碱对照品加入量为 0.537 5 mg

2.10 含量测定

取不同批号样品, 按已确立方法制备供试液, 分别精密吸取供试品溶液与对照液各 5 μL , 注入液相色谱仪中, 测定, 即得。结果见表 2。

表 2 止泻保童颗粒中盐酸小檗碱含量测定结果

批号	盐酸小檗碱含量 $\text{mg}/\text{袋}$
20020814	0.535
20020820	0.505
20020906	0.500
20020915	0.484
20020930	0.503
20021006	0.387
20021015	0.394
20021022	0.382
20021106	0.506
20021121	0.516

根据上述测定结果, 暂定本品每袋含黄连以盐酸小檗碱计算, 不得少于 0.3 mg 。

3 讨论

3.1 测定波长的确立

经绘制紫外图谱, 确定测定波长为 350nm。紫外图谱测定条件: 溶剂为甲醇, 扫描纸数为 40 $\text{nm} \cdot \text{cm}^{-1}$, 扫描区间 400 ~ 200nm。

3.2 流动相的筛选与确立

先后采用 甲醇 - 乙腈 - 磷酸三乙胺水溶液 (35:0.5:65)、甲醇 - 磷酸三乙胺水溶液 (30:70) 为流动相, 结果提示, 第 2 个系统下, 供试品中盐酸小檗碱与其他组分分离度良好, 经方法学考察, 重复性良好, 固确立此系统为流动相。

3.3 供试品溶液制备方法考察

本实验对提取溶剂、提取方法进行了定量考察, 认为甲醇超声方法简便且活性成分含量较高。

根据上述测定结果, 暂定本品每袋含黄连以盐酸小檗碱计算, 不得少于 0.3 mg 。该法快速灵敏而准确, 方法学考察各项指标均符合规定, 是控制止泻保童颗粒质量的有效方法。**TCM**

参考文献

[1] 卫生部. 卫生部药品标准·中药成方制剂(第六册)[S]. 1992:33.
[2] 沙明. 高效液相色谱法在中药规范化研究中的应用[M]. 沈阳: 辽宁科技出版社, 2000.
[3] 孙毓庆. 现代色谱法及其在医药中的应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.

(收稿日期 2007-02-08)

(下转第 46 页)

3 加强野生五味子资源保护的措施

3.1 加强法制建设，实行立法保护

保护好野生药材资源，是贯彻落实科学发展观，确保医药经济持续、健康发展的需要，具有十分重要的意义。在现有的社会条件下，对野生药材资源的保护管理靠老百姓自觉不现实，必须采取法律和行政手段。为了确保野生药材资源永续利用，黑龙江省制定了《野生药材资源保护条例》，规定采集、收购、运输野生药材要分别办理《采药证》《野生药材收购许可证》《野生药材运输证明》，采集野生药材不得使用破坏性手段和提前采集，野生药材主产区的县（市）采取出动宣传车、张贴布告、散发宣传单等多种形式，宣传加强野生药材资源保护管理工作的重要意义，使广大药农了解采集、收购、运输野生药材需要注意的事项和办理的相关手续，形成依法保护野生药材资源的良好社会氛围。

3.2 相关部门协调配合，加大保护执法力度

野生五味子资源的监管工作涉及到食品药品监督、林业、森工、公安、交通运输等几个部门，光靠一个部门很难监管到位。为此，要建立以一个主管部门牵头，相关部门配合的工作机制，各方面协调一致、密切配合，共同做好工作。黑龙江省以《野生药材资源保护条例》为依据，由食品药品监督管理部门牵头，调动了相关部门的力量共同加强野生五味子资源的监管工作，各相关部门之间密切配合，查处了多起非法采集、收购野生五味子的案

件，使违法采集、收购野生五味子的现象得到了有效的遏制。

3.3 落实经营管护责任，建立野生资源保护区

野生五味子主要生长在山地、丘陵间的杂木林缘、小乔木丛、灌木丛。目前，很多林地都实行了管护经营，野生五味子作为林下资源的一部分，能为林地的经营管护者带来良好的经济效益，具有广阔的发展前景。对于已经实行管护经营的山区林地，在签订经营管护合同的同时，就要同时明确林下资源的管护责任，要求责任人履行保护野生药材资源的义务。不管是否实行管护经营，在野生五味子资源相对比较集中的山区林地，都可以考虑建立野生五味子资源保护区，指定专人承包管理，实行“谁管护、谁受益”，既能保护好资源，又能给林地的所有者或经营者带来良好的经济效益。

3.4 发展人工种植，满足市场需求

发展野生药材资源的人工种植，不仅能够满足市场需求，缓解供求矛盾，也能够通过调整市场价格，缓解野生药材资源保护工作的压力。目前，五味子人工栽培技术已经获得成功并且在逐步推广，人工种植的五味子颗粒饱满、采摘期适宜、产量高、质量好，即使是市场行情有所回落也有利可图，是农民致富的一条值得尝试的途径，适宜栽培的地区不妨大力发展人工种植，按照《中药材生产质量管理规范》（GAP）的要求，建立人工培育基地。

（上接第31页）

Determination of Berberine Hydrochloride in Zhixiebaotong Granule by HPLC

XieShiQuan¹, TianFang¹, Dou DeQiang¹, Wang LiPing², Wang Yanwen³

(1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian Liaoning 116620 China;

2. People Hospital of Liaoning Province, Shenyang Liaoning 110016, China;

3. Central Hospital of Baicheng, Baicheng Jilin 137000, China)

[Abstract] Objective: To control the quality of Zhixiebaotong Granule. Methods: The berberine hydrochloride were determined by HPLC using ODS column at 25℃ with MeOH – Phosphoric acid/trimethylamine (30:70) as mobile phase, detection at 350nm. Results: The berberine hydrochloride are baseline separated with surrounding unknown components and the linearity of which is good with perfect correlation coefficient. Conclusion: The method is reliable, accurate, sensitive and rapid and can be used for quality control of berberine hydrochloride in Zhixiebaotong Granule.

[Key words] Zhixiebaotong Granule; Berberine hydrochloride; HPLC