

消渴愈糖胶囊含量测定方法的研究

王俊秋 代红 王承芬(北京 100035 北京市药品检验所)

摘要 利用高效液相色谱法测定消渴愈糖中小檗碱(Berberine)的含量,色谱条件为:以 C_{18} 色谱柱,以 0.02mol/L 磷酸铵溶液(以磷酸调节 pH 至 3.75 ± 0.1)-乙腈(68:32)为流动相,流速为 1.0ml/min ,检测波长为 346nm ,柱温为室温。小檗碱的线性范围为 $0.04 \sim 0.32\mu\text{g}$, $r = 0.9993$,平均回收率为 98.99% ,方法的精密度,重现性良好,可用于定量分析。

关键词 消渴愈糖胶囊;黄连;小檗碱;HPLC

消渴愈糖胶囊是新研制的用于治疗糖尿病的复方制剂,由 23 味中药精制而成,方中以山药和黄连为君药,还含有黄柏等。山药中含有皂甙、粘液质、山药碱、尿囊素等,黄连内含小檗碱,巴马汀,药根碱等成份,辅药黄柏中也含小檗碱等成分,但中国药典 1995 年版一部^[1] 所载的山药和黄柏中没有含量测定的方法,黄连中有含量测定方法,采用薄层荧光扫描法测定小檗碱的含量。因此本制剂也选用小檗碱为含量测定的成分,小檗碱的含量测定方法文献报道较多,其中有 HPLC^[2],为使制剂中各成分得到最佳分离,使质量真正可控,探索了一个较好的 HPLC 测定制剂中小檗碱的含量。

1 仪器及试剂

仪器:高效液相色谱仪(美国光谱物理公司,型号:SP8810)。色谱柱:YWG C_{18} $10\mu\text{m}$ $250\text{mm} \times 4.6\text{mm}$ 。试剂:乙腈为色谱纯,磷酸铵、磷酸、乙醇均为分析纯,氧化铝(中性)柱层析试剂 100~200 目。

盐酸小檗碱(减压干燥至恒重并己用本色谱法以归一法测定纯度)、巴马汀、药根碱对照品(中国药品生物制品检定所)。

样品:原料(批号 940312-1,940313-1,940314-

1)、胶囊(批号 940312,940313,940314)(北医大中药研究室)。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件

色谱柱为 C_{18} 柱;流动相为 0.02mol/L 磷酸铵溶液(以磷酸调至 3.75 ± 0.5)-乙腈(69:32),柱温:室温,检测波长 346nm ,流速 1.0ml/min ,进样量 $10\mu\text{l}$ 。色谱柱的理论板数按盐酸小檗碱计算应大于 2000。

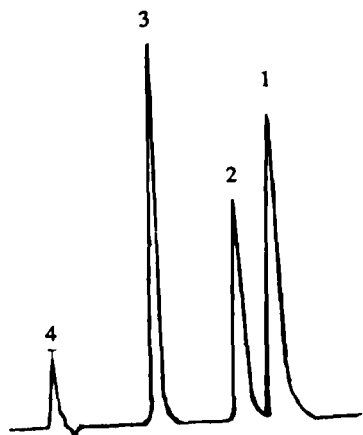
2.2 小檗碱、巴马汀、药根碱的分离

称取小檗碱、巴马汀、药根碱各 10mg 用乙醇稀释成 $20\mu\text{g/ml}$ 的溶液,按上述色谱条件进行测定,3 种成分得到较好的分离,色谱图见附图。

2.3 标准曲线的制备

精密称取减压干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 20mg ,置 50ml 量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 $0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0\text{ml}$ 对照品溶液至 50ml 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,各进样 $10\mu\text{l}$,以对照品的浓度(c)对峰面积值(A)计算回归方程,其回归方程为: $A = 6.73 \times 10^4 c - 2.75 \times 10^4$ ($r = 0.9993$)。

结果表明在本实验条件下,盐酸小檗碱在 $0.04 \sim 0.32\mu\text{g}$ 浓度范围有良好的线性关系。



附图 小檗碱、巴马汀、药根碱的分离图谱

2.4 空白试验

取除黄连、黄柏以外各药材处方量,按工艺制得胶囊,照与供试品溶液相同的方法制备,得空白对照液,依法测定,结果表明,在本试验条件下,其它成分对本测定方法无干扰。

2.5 精密度试验

取供试品溶液,重复进样5次,小檗碱峰面积值的相对标准偏差为1.81%。

2.6 重现性试验:

按含量测定的方法,对同一批样品进行多次测定,相对标准偏差为1.37%(n=5)。

2.7 回收率试验

采用加样回收法,取已知含量的样品,分别添加盐酸小檗碱对照品,按含量测定法测定,计算回收率,平均值为98.9%,相对标准偏差为1.54%,详细结果见表1,结果表明,本法具有良好的回收率。

表1 回收率试验结果

编号	样品中小檗碱的量(mg)	添加小檗碱的量(mg)	实测出小檗碱的量(mg)	回收小檗碱的量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	11.86	12.80	24.78	12.92	100.9		
2	12.10	12.30	24.32	12.22	99.35		
3	11.33	12.90	23.80	12.47	96.67	98.99	1.54
4	15.60	10.70	26.22	10.62	99.25		
5	11.06	11.60	22.52	11.46	98.79		

2.8 样品测定

对照品溶液的制备:精密称取盐酸小檗碱对照品10mg,置100ml量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密吸取上述溶液5ml置50ml量瓶中,加乙醇至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

供试品溶液的制备:取本品约3g,精密称定,至索氏提取品中,用乙醇提取回流至无色,提取溶液移至50ml量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,精密量取5ml,置已处理好的氧化铝柱(内径约0.9cm,中性氧化铝5g,湿法装柱,用乙醇30ml预洗)上,用乙醇20ml分次洗脱,收集洗脱液,置25ml量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

测定法:取对照品溶液与供试品溶液分别进样10 μ l,测定峰面积,以外标法计算即得。测定3批原料及3批胶囊,结果见表2。

表2 3批半成品及3批胶囊测定结果

规格	批号	盐酸小檗碱的含量(%)
半成品	940314-1	0.420
	940313-1	0.380
	940312-1	0.390
胶囊	940312	0.419
	940313	0.378
	940314	0.392

3 讨论

3.1 提取条件

提取药中小檗碱可采用多种方法,可分别用甲醇-盐酸(1:1);甲醇、乙醇为溶剂用索氏提取器提取;或采用有以甲醇为溶剂浸泡过夜后超声提取,结果无明显差异,本文采用乙醇为溶剂用索氏提取器提取。

3.2 样品的分离条件

该药经乙醇提取后,除小檗碱外还有其它多种杂质,为除去杂质,经多次试验,后以中性氧化铝柱的分离效果为最佳。

3.3 流动相条件

经试验pH越低,小檗碱的出峰时间越快,但在pH3.75左右小檗碱与巴马汀、药根碱的分离效果最佳;而磷酸铵的浓度无论增大或减少均会使小檗碱的出峰时间延长;乙腈的质量对出峰时间有所影响,但不影响小檗碱与巴马汀及药根碱的分离。

参考文献

- 1 中国药典.1995年版.一部.
- 2 孟令杰,阎汝南,陈定一.反相高效液相色谱法测定黄连中成药中小檗碱、黄连碱、巴马汀的含量.中成药,1989,12(11):11.

收稿日期:1997-07-27