

血尿安制剂标准中盐酸小檗碱含量测定方法的优化

姚荣成^{1*}, 林琼芬¹, 张雯洁^{2#}(1.曲靖市第一人民医院药学部, 云南 曲靖 655000; 2.云南省食品药品检验所中药室, 昆明 650011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0840-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.42

摘要 目的: 优化血尿安胶囊和片剂中盐酸小檗碱的含量测定方法。方法: 采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液(每 100 ml 加十二烷基磺酸钠 0.1 g)(45:55, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 进样量为 5 μl, 柱温为 30 ℃, 检测波长为 349 nm。结果: 盐酸小檗碱进样量在 0.98~9.82 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD ≤ 0.66%; 血尿安胶囊和片剂的平均加样回收率分别为 100.6% 和 99.6%, RSD 分别为 0.69% 和 0.66% ($n=6$)。结论: 该方法简便、准确、高效, 为血尿安制剂的质量控制标准的统一、提高提供了科学依据。

关键词 血尿安胶囊; 血尿安片剂; 反相高效液相色谱法; 盐酸小檗碱; 含量测定

Optimization of the Method for the Content Determination of Berberine Hydrochloride in the Xueniao' an Preparations Standard

YAO Rong-cheng¹, LIN Qiong-fen¹, ZHANG Wen-jie²(1. Dept. of Pharmacy, the No.1 People's Hospital of Qujing, Yunnan Qujing 655000, China; 2. Dept. of Chinese Medicine, Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming 650011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the method for the content determination of berberine hydrochloride in Xueniao' an capsules and tablets. METHODS: HPLC method was employed. The chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-phosphate solution (add 0.1 g sodium dodecyl sulfate per 100 ml)(45:55, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The sample volume was 5 μl with the column temperature of 30 ℃. The detection wavelength was 349 nm. RESULTS: There was a good linear relationship between volume of berberine hydrochloride and peak area values in the range of 0.98-9.82 μg ($r=0.9999$). RSD of precision, stability and reproducibility tests were no more than 0.6%; the average recoveries of capsules and tablets were 100.6% and 99.6%, RSD were 0.69% and 0.66%, respectively ($n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and efficient. It can provide the scientific foundation for the harmonization and improvement of quality control standards of Xueniao' an preparations.

KEYWORDS Xueniao' an capsules; Xueniao' an tablets; RP-HPLC; Berberine hydrochloride; Content determination

血尿安制剂包括胶囊和片剂, 是根据傣医名方制成的由肾茶、小蓟、白茅根和黄柏四味药组成的复方制剂, 具有清热利湿、凉血止血之功效, 用于湿热蕴结所致尿血、尿频、尿急、尿痛以及泌尿系感染见上述证候者。两者的现行标准均为原国家食品药品监督管理局国家药品标准, 胶囊剂标准为 WS-10793(ZD-0793)-2002-2012Z, 片剂标准为 YBZ06302009。

黄柏为制剂中的重要组成, 具有清热、解毒的药理作用, 盐酸小檗碱是其主要活性成分^[1-2]。因此, 血尿安胶囊和片剂的现行质量控制标准中均采用高效液相色谱(HPLC)法测定其中盐酸小檗碱的含量, 规定胶囊每粒不得少于 2.5 mg, 片剂每片不得少于 5.40 mg。笔者经过多批试验数据分析发现, 两种血尿安制剂原标准的含量测定方法存在缺陷, 不能实现对待测成分的完全提取, 故本试验拟对相关测定方法进行优化, 以求准确测定出其中盐酸小檗碱的含量。

1 材料

1200 型 HPLC 仪, 包括 G1379A 真空脱气泵、G1313A 自动进样器、G1311A 四元泵、G1316A 柱温箱、G1315B 二极管阵

列检测器(美国安捷伦公司); KQ-50B 超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司); BS224S 电子天平(德国赛多利斯公司); TB-215D 电子天平(美国丹弗公司)。

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110713-200911, 供含量测定用, 纯度: 86.8%, 使用前无需处理); 血尿安胶囊(云南理想药业有限公司, 批号: 2012010243、2012030299、20120301100、20120106101、20120104102、20120105103、20120303104、20120306113、2013090315、20130904173); 血尿安片(云南铭鼎药业有限公司, 批号: 110901、111101、111102、110401); 乙腈、十二烷基磺酸钠为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 实验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 检测波长: 349 nm; 柱温: 30 ℃; 流速: 1.0 ml/min; 进样量: 5 μl; 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(每 100 ml 加十二烷基磺酸钠 0.1 g)(45:55, V/V)。在上述色谱条件下, 各成分分离度大于 1.5, 理论板数按盐酸小檗碱峰计算不低于 5 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取盐酸小檗碱对照品 0.037 70

* 副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0874-3319912

通信作者: 主任药师。研究方向: 中药、民族药质量标准。电话: 0871-63130538。E-mail: 1533176719@126.com

g,置于50 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液A(含盐酸小檗碱0.654 5 mg/ml)。精密量取对照品溶液A 5 ml,置于50 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液B(含盐酸小檗碱65.45 μg/ml)。

2.2.2 供试品溶液制备 取胶囊内容物0.3 g或片剂粉末0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入1%盐酸甲醇溶液50 ml,称定质量,超声处理30 min(功率:250 W,频率:40 kHz),放冷,用1%盐酸甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方比例制备缺黄柏的阴性空白样品,并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

取“2.2”项下对照品溶液B、供试品溶液、阴性对照溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果表明,其他药材成分并不干扰盐酸小檗碱的测定。

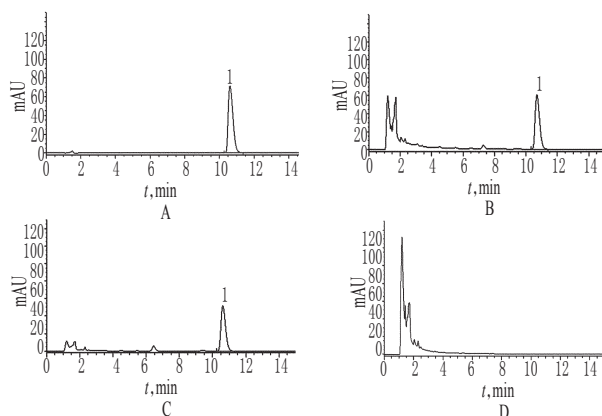


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.血尿安胶囊供试品;C.血尿安片剂供试品;D.阴性对照;1.盐酸小檗碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference; B. test sample of Xueniao'an capsules; C. test sample of Xueniao'an tablets; D. negative control; 1. berberine hydrochloride

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液A 2、5、10、15 μl,对照品溶液B 2、5、10、15 μl注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样分析。分别以盐酸小檗碱进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=4\ 070.73x+52.22$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,盐酸小檗碱进样量在0.98~9.82 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液B,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,测定盐酸小檗碱的峰面积。结果,其峰面积分别为1 351.80、1 352.20、1 355.76、1 358.87、1 359.88、1 351.92,平均值为1 355.07, RSD为0.27%($n=6$),表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

分别取胶囊样品(批号:2012010243)和片剂样品(批号:110901)适量,各按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,于室温下放置,按“2.1”项下色谱条件每隔5 h进样1次,测定盐酸小檗碱的峰面积。结果,其峰面积的RSD分别为0.20%和0.66%($n=6$),表明室温条件下供试品溶液中的盐酸小檗碱在25 h

内稳定。

2.7 重复性试验

分别取胶囊样品(批号:2012010243)内容物和片剂样品(批号:110901)粉末适量,按“2.2.2”项下方法各平行制备6份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行含量测定。结果,两种制剂中盐酸小檗碱的含量分别为9.40、11.91 mg/g, RSD分别为0.14%、0.15%($n=6$),表明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液A(0.654 5 mg/ml) 12份,每份2 ml,分别置于锥形瓶中,低温挥干,取已知含量的胶囊样品(批号:2012010243)内容物约0.15 g和片剂样品(批号:110901)粉末约0.1 g,精密称定,各6份,分别加入上述锥形瓶中,按“2.2.2”项下方法制得所需供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果详见表1、表2。

表1 血尿安胶囊加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests of Xueniao'an capsules ($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.157 8	1.483 1	1.309	2.795 0	100.22	100.6	0.69
0.158 5	1.489 7	1.309	2.799 4	100.05		
0.159 8	1.501 9	1.309	2.835 3	101.87		
0.158 9	1.493 5	1.309	2.810 4	100.61		
0.157 1	1.476 5	1.309	2.786 5	100.08		
0.156 5	1.470 9	1.309	2.791 0	100.85		

表2 血尿安片剂加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery tests of Xueniao'an tablets ($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.095 5	1.137 4	1.309	2.437 5	99.33	99.6	0.66
0.097 2	1.157 6	1.309	2.454 4	99.07		
0.098 1	1.168 3	1.309	2.466 2	99.15		
0.097 8	1.164 8	1.309	2.463 7	99.23		
0.099 3	1.182 6	1.309	2.497 6	100.45		
0.098 7	1.175 5	1.309	2.490 4	100.46		

2.9 样品含量测定

取10批血尿安胶囊和4批血尿安片剂各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样,测定盐酸小檗碱的峰面积,采用外标法计算含量,每批样品平行操作2次,结果详见表3、表4。

表3 血尿安胶囊样品含量测定结果($n=2$, mg/g)

Tab 3 Results of content determination of Xueniao'an capsules sample ($n=2$, mg/g)

批号	盐酸小檗碱	批号	盐酸小檗碱
2012010243	3.26	20120105103	3.39
2012030299	3.41	20120303104	3.32
20120301100	3.41	20120306113	3.45
20120106101	3.46	2013090315	4.12
20120104102	3.35	20130904173	4.00

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

根据血尿安制剂质量标准规定,结合文献检索^[3-5],曾采用甲醇、0.002 mol/L盐酸溶液-甲醇(1:1, V/V)(胶囊剂及片剂标准采用的提取溶剂)、0.5%盐酸甲醇溶液、1%盐酸甲醇溶液、2%盐酸甲醇溶液作为提取溶剂进行提取比较。结果,采用1%盐酸甲醇溶液为提取溶剂时,提取较完全,故选定为本试

RP-HPLC法同时测定盐酸阿普林定片的含量和有关物质

王昕*,唐素芳,王卫(天津市药品检验所,天津 300070)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0842-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.43

摘要 目的:建立同时测定盐酸阿普林定片含量及有关物质的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Dikma Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-水-10%四丁基氢氧化铵溶液(40:60:2, V/V/V,用磷酸调节pH至3.0),流速为1.0 ml/min,检测波长为258 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:盐酸阿普林定质量浓度在25.55~204.40 μg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系($r=0.9994$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤0.6%;平均回收率为100.1%,RSD=0.5%($n=9$);杂质总量≤0.84%。结论:本方法简便、准确、专属性好、灵敏度高,可用于盐酸阿普林定片的质量控制。

关键词 盐酸阿普林定片;含量测定;有关物质;反相高效液相色谱法

Content Determination of Aprindine Hydrochloride Tablets and Its Related Substances by RP-HPLC

WANG Xin, TANG Su-fang, WANG Wei (Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop the method for the content determination of Aprindine hydrochloride tablets and its related substances. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Dikma Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water-10% tetrabutyl ammonium hydroxide (40:60:2.0, V/V/V, adjusted to 3.0 using phosphoric acid) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 258 nm, and column temperature was 30 ℃. Sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of aprindine hydrochloride were 25.55-204.40 μg/ml ($r=0.9994$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 0.6%; the average recovery was 100.1% (RSD=0.5%, $n=9$); the total amount of impurities was lower than 0.84%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, specific and sensitive, and can be used for quality control of Aprindine hydrochloride tablets.

KEYWORDS Aprindine hydrochloride tablets; Content determination; Related substances; RP-HPLC

验的提取溶剂。

表4 血尿安片剂样品含量测定结果($n=2, \text{mg/g}$)

Tab 4 Results of content determination of Xueniao' tablets sample($n=2, \text{mg/g}$)

批号	盐酸小檗碱
110901	12.43
111101	12.17
111102	13.02
110401	12.32

3.2 超声提取时间的考察

在现行标准中两种剂型均采用超声提取,其中胶囊提取10 min,片剂提取30 min。在确定溶剂后,对不同超声提取时间10、20、30、40、50、60 min(功率:250 W,频率:40 kHz)进行考察,结果超声40 min与50 min差别不大,超声60 min能够较完全地提取出制剂中的盐酸小檗碱。但由于时间过长,因而参照2010年版《中国药典》“黄柏”的超声提取操作,选定40 min作为本试验的超声提取时间。

3.3 流动相的选择

在现行标准中,胶囊的流动相为乙腈-磷酸盐缓冲液[0.05 mol/L磷酸二氢钾和0.05 mol/L庚烷磺酸钠(1:1)](30:70, V/V),含0.2%三乙胺,用磷酸调节pH至3.0;片剂的流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾缓冲液(用磷酸调节pH至3.0)(32:

68, V/V)。两者流动相配制复杂、烦琐,故本试验对流动相进行了优化:加入十二烷基磺酸钠离子对试剂^[6],选择乙腈-0.1%磷酸溶液(每100 ml加十二烷基磺酸钠0.1 g)(45:55, V/V)为流动相。使流动相的配制更简便、快捷,且所测成分盐酸小檗碱的色谱峰形、分离度及保留时间均能得到满意的结果。

综上所述,本试验建立的测定方法同时适用于血尿安胶囊和片剂两种剂型的含量测定,且该方法简便、准确、高效,为血尿安制剂的质量控制标准的统一、提高提供了科学依据。

参考文献

- [1] 张倩,蔡丽芬,钟国跃. RP-HPLC法同时测定关黄柏中小檗碱、药根碱、巴马汀及黄柏酮含量的方法学研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2061.
- [2] 钟祥,李应东. 小檗碱药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(3): 185.
- [3] 罗懿妮,赖宇红,薛巧如,等. 盐酸小檗碱RP-HPLC测定条件的比较[J]. 中药材, 2004, 27(9): 647.
- [4] 郭洛宏. HPLC法测定三黄片中盐酸小檗碱、大黄素和大黄酚含量的结果分析[J]. 中国药房, 2011, 22(40): 3824.
- [5] 李红玲,莫炫永. HPLC法同时测定川黄柏中盐酸黄柏碱和盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药房, 2014, 25(27): 2562.
- [6] 叶秀金,宋粉云. HPLC测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 90.

(收稿日期:2014-10-31 修回日期:2015-01-09)

(编辑:周 箐)

* 副主任药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:022-23374074。
E-mail:sunshinexin909@sina.com