

HPLC法测定风湿祛痛胶囊中盐酸小檗碱的含量和溶出度

郭文婧*, 王维, 童陈琦, 梁斌鑫(浙江省人民医院药学部, 杭州 310014)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)12-1716-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.12.44

摘要 目的:建立测定风湿祛痛胶囊中盐酸小檗碱含量和溶出度的方法。方法:采用高效液相色谱法测定制剂中盐酸小檗碱的含量;色谱柱为 Waters Xbridge C₁₈,流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠缓冲液(45:55, V/V),流速为 0.5 ml/min,检测波长为 345 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μl。采用转篮法测定盐酸小檗碱的溶出度。结果:盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为 1.06~74.2 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<1%;加样回收率为 96.8%~100.6%(RSD=1.6%, $n=9$)。样品 30 min 的溶出度均>80%。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于风湿祛痛胶囊中盐酸小檗碱含量和溶出度的测定。

关键词 高效液相色谱法;风湿祛痛胶囊;盐酸小檗碱;含量;溶出度

Content and Dissolution Determination of Berberine Hydrochloride in Fengshi Qutong Capsule by HPLC

GUO Wenjing, WANG Wei, TONG Chenqi, LIANG Binxin (Dept. of Pharmacy, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for content and dissolution determination of berberine hydrochloride in Fengshi qutong capsule. METHODS: HPLC was conducted to determine the content of berberine hydrochloride in the preparation; the column was Waters Xbridge C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.05 mol/L sodium hydrogen (45:55, V/V) at a flow rate of 0.5 ml/min, detection wavelength was 345 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. Rotating basket method was used to determine the dissolution of berberine hydrochloride. RESULTS: The linear range of berberine hydrochloride was 1.06-74.2 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 96.8%-100.6% (RSD=1.6%, $n=9$). The dissolution of samples in 30 min was higher than 80%. CONCLUSIONS: The method is simple and stable with good reproducibility, and can be used for content and dissolution determination of berberine hydrochloride in Fengshi qutong capsule.

KEYWORDS HPLC; Fengshi qutong capsule; Berberine; Content; Dissolution

风湿祛痛胶囊是由川黄柏、苍术、威灵仙、鸡血藤、蜂房等十几味中药组成的复方制剂,具有燥湿祛风、活血化瘀、通络止痛的功效。盐酸小檗碱是其主药川黄柏的有效成分^[1]。已有相关文献通过高效液相色谱(HPLC)法对黄柏或黄柏相关制剂中盐酸小檗碱的含量进行了测定^[2-7],但未见此方法用于风湿祛痛胶囊中盐酸小檗碱含量测定的报道。为此,笔者采用 HPLC 法对该制剂中盐酸小檗碱的含量和溶出度进行了测定。

1 材料

1.1 仪器

1200 型 HPLC 仪,包括 G1354A 型四元梯度泵、G1329A 型自动进样器、G1314B 型紫外检测器、G2170BA 型柱温箱(美国 Agilent 公司);RCZ-8 型药物溶出度仪(上海黄海药检仪器公司);XS105 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);SB5200 型超声仪(上海分析仪器公司)。

1.2 药品与试剂

风湿祛痛胶囊(通化金马药业集团有限公司,批号:20140301、20140302、20140303,规格:0.3 g/粒);盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110713-201212,纯度>98%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Waters Xbridge C₁₈(50 mm×2.1 mm,3.5 μm);流动相:乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠缓冲液(45:55, V/V);流速:0.5 ml/min;检测波长:345 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱对照品 10.62 mg,置于 100 ml 量瓶中,用 1% 盐酸甲醇溶液溶解并定容,摇匀,制成盐酸小檗碱质量浓度为 106 μg/ml 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品内容物适量,研磨混匀,取粉末约 1.0 g,精密称定,置于 100 ml 量瓶中,加 1% 盐酸甲醇溶液约 70 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理 40 min,放冷,用 1% 盐酸甲醇溶液定容,摇匀,再精密量取 1.0 ml,置于 10 ml 量瓶中,用 1% 盐酸甲醇溶液定容,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.1.4 阴性对照溶液的制备 按风湿祛痛胶囊处方和制备工艺制备缺黄柏的阴性样品,并按“2.1.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.1.5 系统适用性试验 取“2.1.2”“2.1.3”“2.1.4”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。结果,对照品与供试品色谱中盐酸小檗碱峰保留时间一致,供试品色谱中盐酸小檗碱峰与杂质峰分离度良好,且阴性对照色谱在盐酸小檗碱峰处无吸收峰,理论板数以盐酸小檗碱峰计不少于 3 000,分离度>1.5,表明方法的系统适用性良好。

2.1.6 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下对照品溶液 0.1、0.5、1.5、4.0、7.0 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,用 1% 盐酸甲醇溶液定容,制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各 10 μl,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以盐酸小檗碱质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=100.1x+423.5$ ($r=$

* 药师,硕士。研究方向:医院药学。E-mail:guowj421@126.com

0.999 9)。结果表明,盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为1.06~74.2 μg/ml。

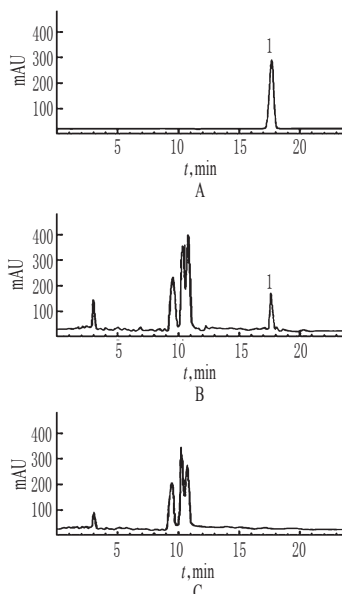


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.盐酸小檗碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.test sample; C.negative sample; 1.berberine hydrochloride

2.1.7 精密度的试验 取“2.1.2”项下对照品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱峰面积的RSD=0.16% (n=6),表明仪器精密性良好。

2.1.8 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:20140301)适量,分别于室温下放置0、1、3、7、11、16 h时进样测定,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱峰面积的RSD=0.20% (n=6),表明供试品溶液在16 h内基本稳定。

2.1.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20140301)适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱峰面积的RSD=0.60% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.1.10 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:20140301)适量,共6份,分别加入低、中、高质量的盐酸小檗碱对照品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

称样量,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,%
0.105	3.23	3.21	6.44	100.6		
0.101	3.04	3.04	6.08	100.0		
0.106	3.11	3.13	6.23	99.6		
0.507	15.90	15.80	30.17	100.6		
0.503	15.10	15.40	30.50	98.1	99.3	1.6
0.504	15.70	15.50	31.20	99.9		
1.010	30.30	30.40	60.70	99.7		
1.000	30.10	31.10	61.20	96.8		
1.000	30.20	31.40	60.90	97.8		

2.1.11 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定并计算含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

样品批号	盐酸小檗碱,mg/g	平均值,mg/g
20140301	28.0	
20140302	29.1	28.73
20140303	29.1	

2.2 溶出度测定

2.2.1 测定方法 取风湿祛痛胶囊6粒,每杯1粒,用2015年版《中国药典》(二部)溶出度测定第一法(转篮法)^[8],以脱气处理的人工胃液(0.1 mol/ml 盐酸溶液)750 ml为溶出介质,转速为100 r/min,温度为(37±0.5)℃,依法操作,经30 min时,吸取溶液适量,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.2.2 溶出曲线的绘制 取6粒样品(批号:20140301)适量,按“2.2.1”项下方法进行的操作,分别于5、10、20、30、40、50 min时取样3 ml(同时补充溶出介质3 ml),按“2.1.1”项下色谱条件进样测定并计算含量,进而计算平均累积溶出度,绘制溶出曲线,详见图2。由图2可知,30 min后溶出曲线趋于平稳,样品达到完全溶出,溶出度测定取样点定为30 min合理。

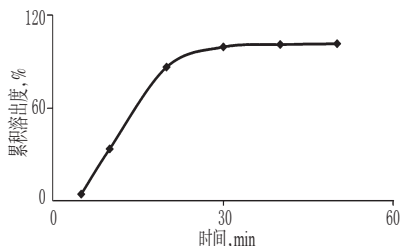


图2 盐酸小檗碱溶出曲线

Fig 2 Dissolution curves of berberine hydrochloride

2.2.3 溶出均一性考察 精密称取同一批样品(批号:20140301)适量,按“2.2.1”项下方法平行操作6次,计算平均累积溶出度,绘制6次的溶出曲线,得溶出均一性结果,详见图3。由图3可知,6次试验溶出曲线趋势基本相同,以30 min的累积溶出度计算,RSD=1.7%,表明已溶出均匀。

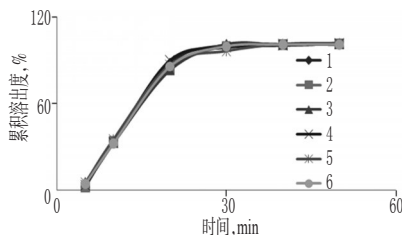


图3 溶出均一性结果(n=6)

Fig 3 Results of dissolution homogeneity test(n=6)

2.2.4 样品溶出度测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.1”项下方法操作,计算30 min时的溶出度,结果见表3。由表3可知,3批样品在30 min时的溶出度均>80%,符合规定。

表3 盐酸小檗碱溶出度测定结果(n=6)

Tab 3 Determination results of dissolution of berberine hydrochloride(n=6)

样品批号	溶出度,%					
	1	2	3	4	5	6
20140301	99.9	99.1	100.8	98.2	96.0	99.2
20140302	100.7	100.4	102.8	100.0	99.0	97.3
20140303	100.8	101.4	99.3	98.8	101.7	100.2

3 讨论

笔者先后对甲醇-磷酸盐缓冲液、乙腈-磷酸盐缓冲液的流动相体系进行了比较研究,发现乙腈-磷酸盐缓冲液系统明显

我校《中药炮制学》教学模式浅析[△]

王艳*, 窦志英, 王晖, 刘亚男, 李佳玮, 马琳[#](天津中医药大学中药学院, 天津 300193)

中图分类号 G642.0 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)12-1718-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.12.45

摘要 目的:对我校《中药炮制学》理论教学和实验教学的运行情况进行总结,为《中药炮制学》教学模式的改革提供参考和借鉴。方法:采用教学软件、教学视频等现代化教学方法和手段丰富理论教学内容;运用理论联系实际的教学方法,激发学生学习兴趣;在教学中引入科研成果,培养学生科研思维。改变了实验教学以传统验证性实验为主的教学模式,增加了设计性实验的学时和分值;改变了传统的平时成绩评价方法,采用形成性评价方法进行评价。结果:学生在学习过程中既学会了理论知识,又培养了分析问题和解决问题的能力,变被动学习为主动学习,从而取得了满意的教学效果。结论:《中药炮制学》教学应转变传统观念,注重科研与教学相结合;提高设计性实验在实验教学中的地位,以激发学生的学习兴趣,增强学生的实践能力,提高教学质量。

关键词 中药炮制学;教学模式;理论教学;实验教学

Brief Analysis of Teaching Model for the *Processing of Chinese Materia* in Our School

WANG Yan, DOU Zhiying, WANG Hui, LIU Ya'nan, LI Jiawei, MA Lin (College of TCM, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To sum up the condition of theoretical teaching and experimental teaching of the *Processing of Chinese Materia*, and to provide reference for the reform of teaching model of the *Processing of Chinese Materia*. METHODS: Teaching software, teaching video and other model teaching methods were used to enrich the content in theory teaching; linking theory with practice was used to stimulate students' interest in learning; scientific research achievement was introduced in teaching to train students' scientific research thinking; the teaching model of traditional confirmative experiment teaching was reformed by increasing designing experiment hours and score; the traditional usual performance evaluation method was changed by replacing with evaluation method of formative, and it was used for evaluation. RESULTS: The students not only learned theoretical knowledge, but also cultivated their ability to analyze and solve problems, changing from passive learning to active learning, so that it has made satisfactory teaching effect. CONCLUSIONS: The traditional concept should be changed in teaching of the *Processing of Chinese Materia*, paying attention to the combination of scientific research and teaching; improve the situation of the designing experiment in the present undergraduate experimental teaching to stimulate students interest in learning, enhance students' practical ability, and improve the quality of teaching.

KEYWORDS *Processing of Chinese Materia*; Teaching model; Theoretical teaching; Experimental teaching

分析时间短,峰形拖尾小,故而选择了该流动相体系。在样品处理时,比较了超声处理 20、40、60 min 时盐酸小檗碱的提取量,发现超声处理 40 min 和 60 min 时盐酸小檗碱的提取量无明显差异,而超声处理 20 min 时盐酸小檗碱的提取量略低,说明超声处理 40 min 及以上时,盐酸小檗碱的提取较完全。故而选择了超声处理 40 min。另外,笔者先后对水、0.1 mol/ml 盐酸溶液作溶出介质进行了比较,发现盐酸小檗碱在后者中溶出更快,故而选择后者作为溶出介质。

综上所述,本试验所建立的风湿祛痛胶囊中盐酸小檗碱的含量和溶出度测定方法操作简便、稳定、重复性好,可用于风湿祛痛胶囊中盐酸小檗碱含量和溶出度的测定。

参考文献

[1] 朱志明,赖潇潇,苏慕霞.不同产地黄柏及关黄柏有效成

分的含量测定[J].临床医学工程,2011,18(1):106.

[2] 张焯,崔征,周海燕,等.高效液相色谱法测定关黄柏不同采收期及黄檗不同部位的小檗碱、巴马汀含量[J].沈阳药科大学学报,2013,20(3):194.

[3] 彭爱华,杨宏,杨林,等.RP-HPLC测定不同采收期川黄柏中小檗碱、黄柏碱的含量[J].华西药学杂志,2006,21(4):377.

[4] 王洪明,许学丽.HPLC法测定颈复康颗粒中盐酸小檗碱的含量[J].中国药房,2013,24(48):4586.

[5] 陈志.HPLC法测定复方槲龙片中盐酸小檗碱的含量[J].齐齐哈尔医学院学报,2013,34(12):1801.

[6] 刘腊娥,王绪明,梁爱君,等.RP-HPLC测定益柏口服液中小檗碱含量[J].中成药,2006,28(10):1544.

[7] 高文学,刘斌.HPLC测定前列安通胶囊中药苕苷和盐酸小檗碱的含量[J].中国现代中药,2013,15(11):992.

[8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:121.

(收稿日期:2015-05-09 修回日期:2015-11-29)

(编辑:张静)

[△] 基金项目:天津市普通高等学校本科教学质量与教学改革研究计划资助项目(No.C04-1008)

* 讲师,博士。研究方向:中药新药开发。电话:022-59596221。E-mail:paozhijiaoxue@126.com

[#] 通信作者:教授。研究方向:药用植物学。电话:022-59596221。E-mail:malin7983@163.com