

## [参考文献]

- [1] 李结琼. 毛细管气相色谱法测定通窍救心油中樟脑的含量[J]. 海峡药学 2006, 18(6): 62-63.
- [2] 李国颖. 气相色谱法测定薄荷水和薄荷油中薄荷脑的含量[J]. 广东药学院学报 2002, 18(3): 191-193.
- [3] 刘杰, 董文玲. 4 种中药橡胶膏剂中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的气相色谱法测定[J]. 中成药 2004, 26(10): 795-798.
- [4] 张水龙, 王红梅, 叶基荣. 气相色谱法测定虎标万金油中薄荷脑及樟脑的含量[J]. 中国药品标准 2003, 4(2): 44-46.
- [5] 何强. 气相色谱法测定皮炎平软膏中樟脑、薄荷脑的含量[J]. 广东药学 2003, 13(6): 13-14.
- [6] 宋敏, 黄慧芬, 戴黎黎. 气相色谱法测定樟霜中樟脑和薄荷脑的含量[J]. 中国药师 2008, 11(10): 1202-1203.
- [7] 周刚, 王巨才, 禹凤英, 等. 毛细管气相色谱法测定复方薄荷脑滴鼻液中薄荷脑和樟脑的含量[J]. 解放军药学报 2006, 22(2): 150-151.

# 高效液相色谱法测定清凉膏中盐酸小檗碱含量<sup>\*</sup>

吕游春, 刘幸平, 张兴德

(南京中医药大学药学院 210046)

**[摘要]** 目的 建立测定清凉膏中盐酸小檗碱含量的方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 AKZONOBEL Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm 5 μm)。流动相为 A(乙腈): B(0.1% 磷酸) (25: 75) 柱温为 30 ℃ 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup> 检测波长 345 nm。结果 盐酸小檗碱在 3.04~48.64 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内, 浓度与峰面积有良好的线性关系。平均回收率 100.86%, RSD=1.80%。样品的平均含量为 29.3 μg·g<sup>-1</sup>。结论 该测定方法专属性强, 精密度、重复性均较好, 可用于清凉膏中盐酸小檗碱含量测定。

**[关键词]** 清凉膏; 小檗碱; 盐酸; 色谱法; 高效液相

**[中图分类号]** R286; R927.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2011)06-0797-02

清凉膏是名老中医丁泽民教授的经验方, 由青黛、血竭、乳香、没药、黄连、冰片等组成, 为南京市中医院制剂(批准文号: Z04000824), 已应用二十余年, 临床疗效佳<sup>[1]</sup>。但原标准中没有规定含量测定方法, 质量控制手段过于简单, 制剂质量难以保证。为有效控制制剂质量, 笔者以具有清热燥湿、泻火解毒功效的黄连为研究对象, 并建立高效液相色谱法<sup>[2-3]</sup>测定其主要成分盐酸小檗碱含量, 为建立该制剂有效的质量控制标准提供参考依据。

## 1 仪器与试药

**1.1 仪器** SPD-10AVP 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), HH-S 型水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂), 索氏提取器(东方科仪)。

**1.2 试药** 清凉膏(规格: 每盒 30 g, 批号: 081124), 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所提供,

批号: 110713-200208)。乙腈为色谱纯(MERCK 公司), 磷酸为分析纯(南京化学试剂有限公司), 水为重蒸水。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: AKZONOBEL Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm 5 μm)。流动相: 乙腈: 0.1% 磷酸(25: 75) 柱温为 30 ℃ 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup> 检测波长: 345 nm。

**2.2 对照品溶液的制备** 取盐酸小檗碱对照品约 6.08 mg, 精密称定后置 100 mL 量瓶, 加甲醇溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品母液。精密量取 2 mL 对照品母液置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 12.16 μg·mL<sup>-1</sup> 的盐酸小檗碱对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取清凉膏 5 g, 精密称定, 用滤纸包裹后放入索氏提取器中, 加甲醇 100 mL, 提取 4 h 后, 将提取液过滤浓缩, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释定容至刻度。

**2.4 专属性实验** 按照处方组成, 称取除黄连以外的其余药味并按照制备工艺制成缺黄连的阴性制剂, 同供试品溶液的制备方法制备成阴性供试液。精密移取盐酸小檗碱对照品溶液、供试品溶液、阴性供试液各 10 μL, 按照“2.1”项色谱条件进样, 测定, 在阴性供试

**[收稿日期]** 2010-07-05 **[修回日期]** 2010-08-15

**[基金项目]** \* 江苏省中医药局课题(基金编号: HL07066)

**[作者简介]** 吕游春(1986-), 男, 江苏盐城人, 在读硕士, 研究方向: 中药化学。电话: (0) 15996312544, E-mail: lyc1986314@126.com。

**[通讯作者]** 刘幸平, 女, 电话: 025-85811520。E-mail: xpliu1955@yahoo.com.cn。

液的色谱图中盐酸小檗碱相应的保留时间(17.487 min)处无色谱峰,说明阴性对照溶液无干扰(图1)。

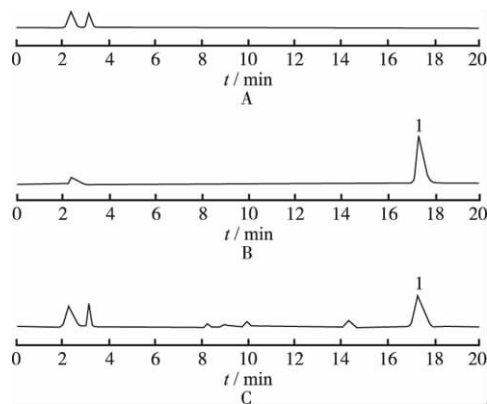


图1 3种溶液的HPLC色谱图

A. 阴性对照品溶液; B. 盐酸小檗碱对照品溶液; C. 供试品溶液; 1. 盐酸小檗碱

**2.5 线性关系考察** 取对照品母液,分别稀释成3.04, 6.08, 12.16, 24.32和48.64  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液,分别精密移取10  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项下的色谱条件测定,以峰面积( $Y$ )为纵坐标,以盐酸小檗碱的质量浓度( $X$ )为横坐标,得到线性回归方程:  $Y = 25\,352X + 36\,678$  ( $r = 0.999\,9$ )。结果表明,盐酸小檗碱在3.04~48.64  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,浓度与峰面积有良好的线性关系。

**2.6 精密度实验** 精密吸取浓度为12.16  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 盐酸小檗碱对照品溶液10  $\mu\text{L}$ ,依法测定5次, RSD为1.68% ( $n = 5$ )。结果表明进样的精密度及仪器精密度均较好。

**2.7 稳定性实验** 取同一对照品溶液分别于0, 2, 4, 8, 12和24 h测定, RSD为2.19%。结果表明样品溶液在24 h内稳定。

**2.8 重复性实验** 取同批供试品(批号:081124),平行5份,按供试品溶液同法制备,精密吸取10  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项下的色谱条件测定。RSD为2.72% ( $n = 5$ )。

**2.9 加样回收率实验** 取已知含量重复性项下的样品(批号:081124,含量:29.3  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ),平行5份,分别精密加入浓度为145.92  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 盐酸小檗碱对照品溶液0.5 mL,按“2.3”项方法处理,具体结果见表1。平均加样回收率100.86%, RSD = 1.80%。

**2.10 样品含量测定** 分别取10批清凉膏制剂约5 g,精密称定,按“2.3”项方法处理样品,照“2.1”项

色谱条件进行含量测定,结果10批样品盐酸小檗碱含量分别为29.1, 29.4, 30.1, 28.3, 27.6, 28.5, 30.6, 31.1, 30.2, 28.1  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,平均含量29.3  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表1 盐酸小檗碱加样回收率实验结果

| 实验号 | 原有量   | 加入量           | 测得量    | 回收率/   |
|-----|-------|---------------|--------|--------|
|     |       | $\mu\text{g}$ |        | %      |
| 1   | 73.25 | 72.96         | 147.76 | 102.12 |
| 2   | 73.32 | 72.96         | 144.87 | 98.07  |
| 3   | 72.96 | 72.96         | 145.92 | 100.00 |
| 4   | 73.18 | 72.96         | 146.55 | 100.56 |
| 5   | 73.28 | 72.96         | 148.33 | 102.86 |
| 6   | 72.86 | 72.96         | 146.95 | 101.55 |

### 3 讨论

笔者曾对多种流动相进行实验,结果表明乙腈:0.1%磷酸为25:75时,各色谱峰能达到很好的分离且峰形好。制剂样品处理常采用超声提取法、热回流法等常规提取方法,结果发现索氏提取法比较适合样品的处理。此方法使软膏连续不断地被纯溶剂萃取,既节约溶剂萃取效率又高。

含量测定时样品常采用高速离心或微孔滤膜过滤等方法进行处理,但由于清凉膏基质中含有凡士林、液体石蜡等油性成分,易溶于有机溶剂,较难除尽,而干扰制剂的含量测定。参考文献的处理方式<sup>[4-7]</sup>,采用冷藏方法进行脱脂效果较好。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.06.037

[参考文献]

- [1] 郑雪平,王业皇,丁义江,等.清凉膏治疗肿痛型外痔的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2007,27(8):719.
- [2] 马云淑,阮志国,曾德军.黄连解毒滴丸中主要有效成分的含量测定[J].辽宁中医杂志,2000,27(5):228-229.
- [3] 王静,陆兔林,毛春芹,等.岩黄连药材的提取工艺研究[J].医药导报,2010,29(3):360-363.
- [4] 尹宁宁,林永强,徐丽华.高效液相色谱(HPLC)法测定冰黄软膏中盐酸小檗碱的含量[J].中国实用医药,2009,4(9):145-146.
- [5] 陈万里,史蕙.高效液相色谱法测定肤痔清软膏中盐酸小檗碱含量[J].贵阳医学院学报,2004,29(2):143-144.
- [6] 管慧,李永江,马建红.高效液相色谱法测定复方黄连软膏中盐酸小檗碱的含量[J].新疆中医药,2007,25(4):81-83.
- [7] 许明哲,尹利辉,胡昌勤.HPLC法测定他克莫司软膏剂含量及含量均匀度[J].中国抗生素杂志,2005,30(12):748-751.