

高效液相色谱法测定小儿 清热片中小檗碱的含量

李世芳¹, 任世禾²

(1 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021;
2 上海中医医院, 上海 200071)

小儿清热片系黄柏、黄连等 11 味中药配伍组成的中成药, 具有清热解毒, 祛风镇惊的功效, 用于小儿风热, 烦躁, 抽搐, 发热, 口疮, 小便短赤, 大便不畅等症。该中成药质量标准中尚无含量测定。本文采用超声波震荡法提取样品, 反相高效液相色谱法测定小儿清热片中小檗碱的含量。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Shimadzu LC-6A 高效液相色谱仪; LC-6A 汞 SPD-6AV 紫外检测器; CTO-6A 柱温箱; SCL-6A 程序控制器; G-R3A 记录仪。

1.2 试剂 对照品: 盐酸小檗碱, 中国药品生物制品检定所。样品: 小儿清热片。

1.3 试剂 乙腈, 甲醇: HPLC 级, 水: 超纯水自制。

2 方法与结果^[1,2]

2.1 色谱条件 层析柱 μ -Bondapak C₁₈ (300 × 3.9mm)。粒径(5 μ m)。流动相: 乙腈-磷酸盐缓冲液^[注] (pH 为 5.0) (60:40)。柱温: 30℃, 检测波长: 254nm。流速: 1ml/min。计算方法: 外标峰面积法。

2.2 标准曲线的制备 精密称取对照品盐酸小檗碱 4mg 置 100ml 容量瓶中, 加甲醇溶解定容, 制备成对照品溶液。用微量进样器精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液 5、10、15、20、25 μ l, 分别进样分析, 以对照品进样量为横坐标, 对照品峰面积积分值为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明: 在所观察的 0.2~1.0 μ g 范围内峰面积积分值与进样量成线性关系。经统计学计算, 得线性回归方程和相关系数:

$$Y=646072+2069851x \quad r=0.9994$$

2.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μ l 进行分析, 连

续 5 次与结果显示, 相对标准偏差 *RSD* 为 1.5%。

2.4 稳定性试验 精密吸取小儿清热片样品液 10 μ l 进样, 每隔 1h 进样一次, 持续 5h, 结果显示, *RSD* 为 2.1%。

2.5 重现性试验 取同一批号, 分别精密称定 5 份, 测定其含量, 结果显示, *RSD* 为 2.2%。

2.6 加样回收率试验 在已知含量的样品中加入对照品盐酸小檗碱, 按样品制备方法制备成加样样品溶液, 照上述色谱条件测定其含量, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验表

成分	样品含量 (mg)	加入对照品量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	<i>RSD</i> (%)
小檗碱	0.189	0.175	0.356	95.4	95.9	0.83
	0.201	0.192	0.387	96.9		
	0.193	0.151	0.339	96.7		
	0.178	0.142	0.313	95.1		
	0.195	0.163	0.351	95.7		

2.7 样品含量测定 取小儿清热片 20 片, 研成粉末, 精密称取 1g, 置于 50mL 具塞三角烧瓶中, 精密加入 25mL 甲醇, 放入超声波震荡器中超声提取 20min 后, 用 0.45 μ m 孔径滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液为供试品溶液。

精密吸取样品液 10 μ l 进样, 按上述色谱条件测定, 用外标二点法计算含量, 测定五批样品小檗碱含量, 分别为: 0.018、0.016、0.019、0.018、0.017(%)

3 讨论

采用超声波震荡法提取样品, 震荡时间, 经 5、10、15、20、30min, 结果显示: 震荡 20min 与 30min, 测定含量无显著差异, 故选用 20min。

[注] 磷酸盐缓冲液的配制方法: 取 0.2mol/L 磷酸二氢钠一定量, 用氢氧化钠试液调节 pH 值至 5.0 即得。

参考文献:

[1] 臧凤和, 杨晓春, 杨国红, 等. 薄层比色法测定黄连中小檗碱的含量[J]. 药物分析杂志, 1986, 6(2): 100-102.
[2] 韩咸泰, 李建华, 罗尚萍, 等. 小儿牛黄散中胆酸及盐酸小檗碱中的薄层扫描法定量[J]. 内蒙古药学, 1987, 6(4): 30-32.