

翘的阴性样品,依法测定,结果在与连翘苷色谱峰相应位置上无干扰峰出现。

4. 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别在 0、5、9、15 小时依法测定,结果测得峰面积积分值 RSD 为 1.90%。

5. 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 5 $\mu$ l,连续进样 5 次,测得峰面积积分值 RSD 为 1.36%。

6. 重现性试验 取同一批号供试品 5 份,依法平行测定 5 次,结果 RSD 为 1.30%。

7. 回收率试验 精密称取同法测定的已知含量的样品 5 份,精密加入连翘苷对照品适量,依法测定,计算回收率分别为 98.92%, 101.24%, 99.89%, 98.31%, 99.71%。平均回收率为 99.61%, RSD 为 1.1%。

8. 样品测定结果 依法测定样品三批,结果为每片含 2.85mg, 2.98mg, 2.76mg。

#### 四、讨论

1. 连翘是一种常用的清热解毒的中药材,其主要指标性成分为连翘苷。目前报道的测定波长多为 277nm,样品取样量大,对于连翘药材含量低或其他成分干扰严重的制剂进行测定是不可行的。本方法的建立为今后类似的制剂中连翘苷的测定提供了参考依据。

2. 连翘供试品的处理 目前《中国药典》2000 年版一部是采用中性氧化铝进行纯化处理,但通过对多个品种的考察,中性氧化铝在定量试验中重现性差,影响测定结果。本文通过用碱液洗涤的方法除杂质,效果较好。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 2000 年版一部 北京化学工业出版社  
[2] 韩桂茹,董占军 小儿感冒颗粒的薄层鉴别和含量测定研究,中成药 2004,26(11)

## HPLC 法测定维生素 B<sub>6</sub> 软膏的含量

陈 旻<sup>①</sup> 李晨辉<sup>①</sup> 刘 佳<sup>②</sup> (1. 广东省药品检验所 广州 510180; 2. 广东药学院 广州 510240)

**摘要** 目的:建立高效液相色谱法测定维生素 B<sub>6</sub> 软膏含量的方法。方法:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以 0.04% 戊烷磺酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 值至 3.0)-甲醇(85:15)为流动相,流速为 0.8ml/min,检测波长为 291nm。结果:维生素 B<sub>6</sub> 的线性范围为 0.1011 $\mu$ g~5.0548 $\mu$ g。相关系数,  $r=1$ , 平均回收率 99.2% (RSD=1.4%,  $n=9$ )。结论:本方法简便、快速、准确,可作为维生素 B<sub>6</sub> 软膏的含量测定方法。

**关键词** 维生素 B<sub>6</sub>; 高效液相色谱法

## Content Determination of Vitamin B<sub>6</sub> Ointment by HPLC

Chen Min<sup>①</sup>, Li Chen-hui<sup>①</sup> and Liu Jia<sup>②</sup> (①Guangdong Provincial Institute for Drug Control, Guangzhou 510180; ②Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510240)

**Abstract Objective:** An HPLC method is established for the content determination of Vitamin B<sub>6</sub> Ointment. **Method:** C<sub>18</sub> column is used. The mobile phase is 0.04% solution of Sodium Pentanesulfonate (Adjust pH=3.0 with Glacial Acetic Acid)-Methanol (85:15). The flow rate is 0.8ml/min. The detection wavelength is 291nm. **Results:** The calibration curve is linear in the range of 0.1011~5.0548 $\mu$ g,  $r=1$ . The average recovery is 99.2% (RSD=1.4%,  $n=9$ ). **Conclusions:** The method is simple, rapid and accurate. It can be used for the quantitative content determination of Vitamin B<sub>6</sub> Ointment.

**Key Words** Vitamin B<sub>6</sub>; HPLC

维生素 B<sub>6</sub> 软膏是维生素类的皮肤外用药物。在《国家药品标准》<sup>[1]</sup>已有收载,其含量测定的方法为比色法,影响因素比较多。《中国药典》<sup>[2]</sup>2005 年版二部收载的维生素 B<sub>6</sub> 及制剂含量测定的方法均为 HPLC 法。本文参考《中国药典》2005 年版二部维生素 B<sub>6</sub> 含量测定方法,建立了 HPLC 法测定维生素

B<sub>6</sub> 软膏的含量。

### 一、仪器与试剂

紫外分光光度计(日本岛津 2450),安捷伦(Agilent 1100)高效液相色谱系统。维生素 B<sub>6</sub> 对照品(含量 99.7%)。维生素 B<sub>6</sub> 软膏(批号:20050501 20041101 20041103)广东顺峰药业有限公司生产。

甲醇为色谱纯(Merck 公司),水为超纯水。

## 二、色谱条件

色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub>(5 $\mu$ m, 150 $\times$ 4.6mm, 瑞典 EKA Chemical 公司); Thermo ODS HYPERSIL (5 $\mu$ m, 150 $\times$ 4.6mm); Phenomenex Prodisy (5 $\mu$ m, 250 $\times$ 4.6mm), 流动相为 0.04% 戊烷磺酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 值至 3.0)-甲醇(85:15); 检测波长为 291nm; 流速 0.8ml/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 20 $\mu$ l。

## 三、方法和结果

1. 对照品溶液的制备 精密称取维生素 B<sub>6</sub> 对照品 10mg, 置 200ml 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。

2. 供试品溶液的制备 精密称取维生素 B<sub>6</sub> 软膏适量(约相当于维生素 B<sub>6</sub> 10mg), 置分液漏斗中, 加氯仿 50ml, 振摇, 再加乙醚 30ml, 振摇, 溶散后, 用水提取 4 次, 每次 30ml, 再用水 30ml 洗涤分液漏斗, 合并提取液与洗液, 滤入 200ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 用微孔滤膜(0.45 $\mu$ m)滤过, 滤液作为供试品溶液。

3. 线性关系 精密称取维生素 B<sub>6</sub> 对照品 25mg 置 100ml 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 0.2ml、1ml、2ml、2.5ml、5ml、10ml, 分别置 10 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 20 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 记录色谱图(见图 1), 以峰面积 A 对进样量( $\mu$ g)绘制标准曲线, 回归方程为:  $Y = 3057.7X - 25.405$ ,  $r = 1$ , 本品在进样量 0.1011~5.0548 $\mu$ g 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

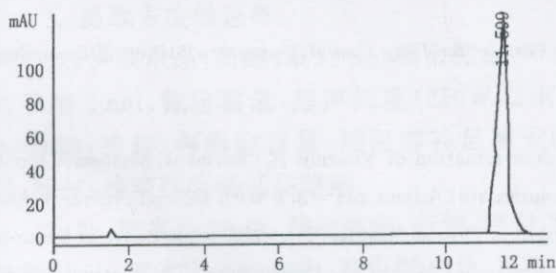


图 1

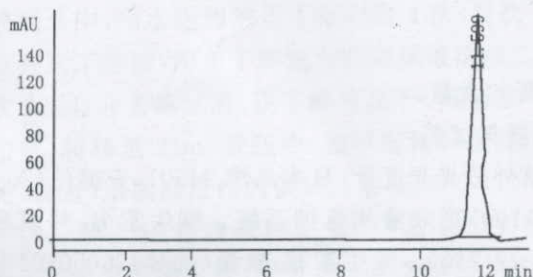


图 2

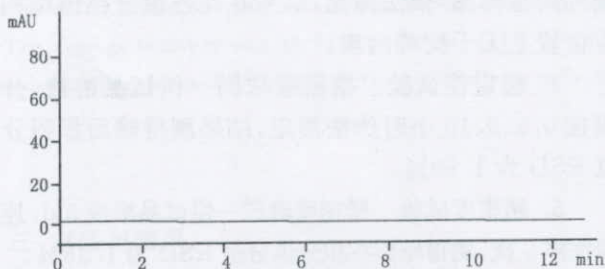


图 3

4. 精密度 分别精密量取对照品溶液各 20 $\mu$ l, 重复进样 7 次, 峰面积的 RSD 为 0.04%。

5. 空白干扰试验 取空白基质适量, 照 3.2 制成供试品溶液, 注入液相色谱仪, 在维生素 B<sub>6</sub> 相应的保留时间位置无干扰峰出现(见图 3)。

6. 重复性试验 分别精密称取供试品(批号 20050501)6 份, 按 3.2 制成供试品溶液, 进样 20 $\mu$ l, 记录色谱图(见图 2), 样品中维生素 B<sub>6</sub> 的平均含量为标示量的 94.10%, RSD 为 0.5%。

7. 稳定性 分别取对照品溶液和供试品溶液在 0、5、8、10、18、47、55h 测定, 其峰面积 RSD 分别为 0.4% 和 0.3%, 表明对照品和供试品溶液在 55h 内稳定。

8. 回收率 精密称取已知含量的维生素 B<sub>6</sub> 软膏适量(相当于维生素 B<sub>6</sub> 10mg), 分别加入对照品 10mg、15mg、20mg 各 3 份, 照 3.2 制成供试品溶液, 精密量取该供试品溶液 10ml 置 25ml 量瓶中, 加水稀释至刻度。按含量测定方法测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 维生素 B<sub>6</sub> 软膏回收率试验

序号	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	10.70	10.60	99.06	99.2	1.4
2	10.50	10.32	98.24		
3	10.34	10.01	96.77		
4	15.45	15.10	97.75		
5	15.21	15.13	99.47		
6	15.03	14.99	99.71		
7	20.84	20.88	100.19		
8	20.10	20.19	100.45		
9	21.22	21.42	100.95		

9. 耐受性试验 使用三根不同牌号的色谱柱作比较, 结果发现它们所显示的对照品溶液、供试品溶液、空白溶液的色谱图的峰形、峰面积及出峰时间都无明显差异。

10. 样品含量测定 取 3 批样品分别按国家药品标准和 HPLC 法测定结果(标示量%), 比较如下

(见表 2)

表 2

批号	比色法	HPLC 法
20050501	95.0	94.9
20041101	98.8	96.2
20041103	98.1	100.3

#### 四、讨论

1. 取对照品溶液在 200nm~360nm 范围进行扫描,发现在 206nm 和 291nm 有最大吸收,考虑到 206nm 处溶剂的影响因素比较大,同时《中国药典》2005 年版维生素 B<sub>6</sub> 其他品种的测定波长是 291nm,因此选定 291nm 作为测定波长。

2. 样品的提取方法 试验中考察过用 50ml 乙醚溶解其油脂性基质,但是基质溶解效果不好,最终还是参考《国家药品标准》用 50ml 氯仿和 30ml 乙醚来溶解基质,从回收率试验结果来看,本法提取效

果比较好,同时用该方法反复试验,色谱柱的压力没有明显的增加,反映出该提取方法能够较好的除去基质,减少对色谱柱的损害。

3. 由于厂家提供的空白基质太少,不够做回收率试验,因此只是考察了空白辅料的干扰试验,回收率则采用加样回收试验。

4. 《国家药品标准》规定维生素 B<sub>6</sub> 软膏含量测定的方法是比色法,由于比色法受干扰因素比较多,现该为高效液相色谱法测定其含量。建议将该品种的国家药品标准进行修改,以提高含量测定的专属性。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会编,国家药品标准(化学药品地方标准上升国家标准),国家药品监督管理局,2002(3):278
- [2] 国家药典委员会编,中华人民共和国药典第二部,北京化学工业出版社,2005:667

## HPLC 法测定沙日毛都气雾剂中盐酸小檗碱的含量

周雪梅<sup>①</sup> 白在贤<sup>②</sup> 韩塔娜<sup>①</sup> 王 瑞<sup>①</sup> (①内蒙药检所 0110020;②呼和浩特铁路中心医院 010010)

**摘要** 目的:测定沙日毛都气雾剂中盐酸小檗碱的含量。方法:高效液相色谱法。结果:线性范围 4.85μg~48.50μg,相关系数 0.9999。平均回收率 100.80%,RSD 为 1.23%。重现性较好(RSD 为 0.32%)。结论:方法简单、准确、可靠。

**关键词** 沙日毛都气雾剂;盐酸小檗碱;高效液相色谱法;含量测定

## Determination of Berberine Hydrochloride in Sharimaodu Aerosol by HPLC

Zhou Xue-mei<sup>①</sup>, Bai Zai-xian<sup>②</sup>, Han Ta-na<sup>①</sup>, Wang Rui<sup>①</sup> (① Inner Mongolia Institute for Drug Control, Huhhot 010020; ② Railroad Center Hospital of Huhhot, Huhhot 010010)

**Abstract Objective:** To determine the content of Berberine Hydrochloride in Sharimaodu Aerosol. **Method:** HPLC. **Results:** The calibration curve was linear in the range of 4.85μg~48.50μg,  $r=0.9999$ . The average recovery was 100.80%, RSD=1.23%. The Reproducibility is good (RSD=0.32%). **Conclusion:** This method was simple, accurate and reliable.

**Key words** Sharimaodu Aerosol, Berberine Hydrochloride, HPLC, Determination

蒙成药沙日毛都气雾剂是由黄柏、栀子、甘草、红花等味药组成的新型外用制剂。具有收敛、杀虫、止痒功能。主要用于红肿热痛性皮肤病,皮肤瘙痒等病症。因黄柏为本药的主成分,所以对黄柏八味散黄柏的主要成分小檗碱建立了含量测定方法,经方法学考察结果表明,本法操作简单,重复性好;小檗碱化学性质稳定,可作为本制剂生产及检验的质量控制指标。

#### 一、仪器与试剂

1. 仪器:Alltech 426HPLC 泵,Alltech UVIS-201 型检测器,CHROMITEK 色谱工作站。

2. 试剂与试药:甲醇为色谱纯,水为高纯水。小檗碱对照品(批号:0713-9906);中国药品生物制品检定所;其它试剂均为分析纯。

#### 二、试验与方法

1. 色谱条件<sup>[1]</sup>: C<sub>18</sub> 柱(250mm × 4.6mm, 10μm);流动相:0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调节 pH 值至 3);乙腈(70:30)。检波长为