

## ノート

## キャピラリー電気泳動を用いる製剤中の塩化ベルベリンの定量

赤田 良信<sup>®</sup>, 石井 信之, 中根 徳人\*

(1992年1月9日受理)

## 1 緒 言

キャピラリー電気泳動法 (CZE) は、高い分離能をもつ分離分析法として知られており、特にフリーゾーンで泳動させた場合、製剤のような複雑なマトリックスをもつ試料中の分析対象物質を、前処理することなくイオン性物質に限定することができる利点がある。

一方、塩化ベルベリン (5,6-dihydro-8,9-dimethoxy-1,3-dioxo-6a-azonianindeno[5,6-a]anthracene chloride, Ber.) の分析には、吸光度測定法<sup>1,2)</sup>、薄層クロマトグラフィー<sup>3,4)</sup>、高速液体クロマトグラフィー<sup>5)~7)</sup>など種々の方法が報告されている。しかし、製剤中の Ber. を CZE により分析した報告はない。そこで、著者らは、Ber. が、四級アンモニウム塩の構造をもつ塩基性物質であることに着目し、CZE 法による分析のための基礎条件を検討し、次いで、本法を、市販製剤中の Ber. の定量に適用した。

## 2 方 法

## 2・1 装置及び試薬

装置は、Waters Quanta 4000 System を用い、分離用キャピラリーは、75  $\mu\text{m} \times 60 \text{ cm}$  (有効長 55 cm) のウォーターズ製アキュセップキャピラリーを使用した。検出は、装置に内蔵の紫外外部吸収検出器を用い、オシカラム検出法により行い、214 nm を検出波長とした。

## 2・2 標準品、試薬及び試料

Ber. 標準品は、和光純薬工業より購入の生薬定量用標準品を使用した。その他の試薬は、和光純薬工業より購入の試薬特級をそのまま用いた。

試料は、市販のカプセル剤 1 種及び錠剤 2 種を用い

\* 徳島文理大学薬学部: 770 徳島市山城町西浜傍示 180

た。

## 2・3 標準溶液及び試料液の調製

標準溶液は、標準品約 2 mg を精密に量り、0.1% 塩酸メタノール液に溶かして 50 ml としたものを使用した。

試料溶液は、カプセル剤はそのまま、錠剤は細粉とし、Ber. として約 2 mg に対応する量を精密に量り、0.1% 塩酸メタノール液 40 ml を加え、超音波抽出した後、0.1% 塩酸メタノール液で 50 ml とし、遠心分離して得られた上澄み液を、前処理することなくそのまま用いた。

## 2・4 分析条件

泳動緩衝液は、50 mM リン酸二水素一カリウム水溶液に、リン酸水溶液を加えて pH 5.0 に調製したリン酸緩衝液を使用した。又、泳動電圧は、10.00 kV とした。標準溶液及び試料溶液の注入は、陽極から落差法 (10 s) で行った。定量は、ピーク高さを基にして作成した絶対検量線法により行った。

## 3 結果及び考察

## 3・1 泳動緩衝液の検討

緩衝液として、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液及びリン酸ホウ酸緩衝液について検討したが、分離能、ピークの再現性及び対称性は、リン酸緩衝液が最も良かった。

## 3・2 泳動緩衝液の pH の検討

リン酸緩衝液の pH を 4~8 まで変化させ、泳動緩衝液の pH が Ber. の泳動時間の変動に及ぼす影響を検討した。Fig. 1 に示したように、pH 6 までは、緩衝液中の水素イオン濃度の減少に従い、直線的に泳動時間は短くなるが、pH 6 以上では、あまりその影響を受けない

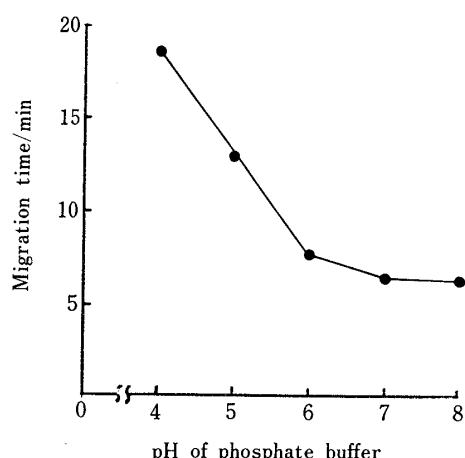


Fig. 1 Relationship between pH of the phosphate buffer and migration time of berberine

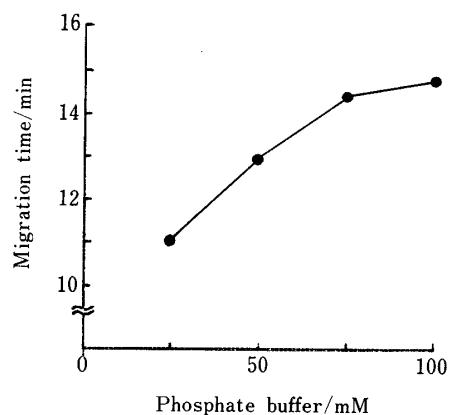


Fig. 2 Relationship between salt concentration of phosphate buffer and migration time of berberine

ことが分かった。そこで、製剤中のきょう雜成分との分離状態及び泳動時間を考慮し、泳動緩衝液のpHは5とした。

### 3・3 泳動緩衝液のイオン強度の検討

Fig. 2に、リン酸緩衝液のイオン強度を25 mMから100 mMまで変化させたときの泳動時間の変動を示した。75 mMまでは、イオン強度の増加と共に泳動時間は長くなり、75 mM以上では、ほぼ一定となった。しかし、あまりイオン強度の大きな緩衝液を用いると、泳動電流も増加するので、分析時間及び泳動電流値を考慮し、緩衝液のイオン強度を50 mMとした。

### 3・4 泳動電圧の検討

Fig. 3に、泳動電圧を2から18 kVまで変化させた

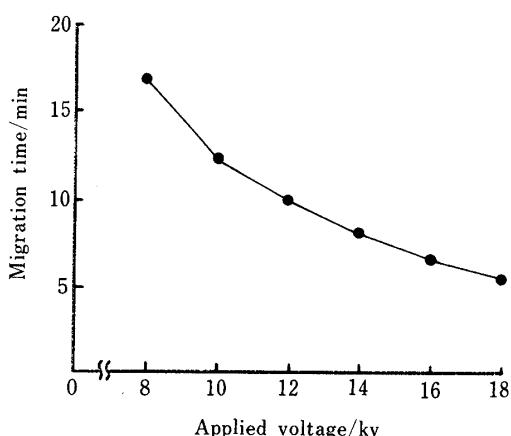


Fig. 3 Relationship between applied voltage and migration time of berberine

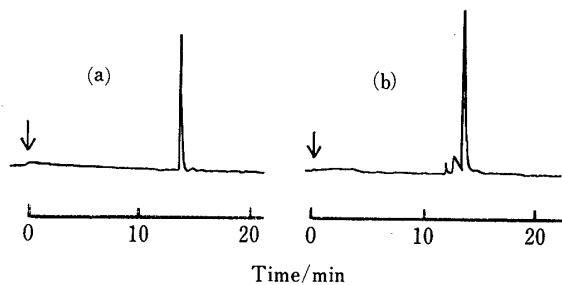


Fig. 4 Electropherograms of berberine  
(a) standard berberine chloride; (b) extract of preparation 2

ときの、泳動時間の変動を示した。泳動電圧の増加と共に、製剤中のきょう雜成分との分離度は変化しないが、泳動時間は短縮されることが分かった。しかし、泳動電圧の増加と共に、泳動電流が増加するので、泳動電圧は10 kVとした。この分析条件での泳動電流は、40  $\mu$ Aであり、1サイクルの分析時間は20分以内であった。

Fig. 4に、著者らが設定したCZE条件で得られた電気泳動図を示した。Fig. 4の(a)は、Ber.標準品であり、(b)は、試料2の電気泳動図である。

### 3・5 定量精度

標準溶液中のBer.濃度と得られた電気泳動図のピーク高さの間には、10~100  $\mu$ g/mlの範囲で、良好な直線関係( $r=0.999$ )が認められた。又、各ピーク高さの再現性は、ピーク高さが1~10 cmの範囲で相対標準偏差が約1%以内( $n=5$ )となり、満足のいく精度で定量できることが分かった。

Table 1 Determination of berberine chloride in various pharmaceutical preparations

Sample No.	Content, %	
	CZE method	HPLC method
1	10.43	10.48
2	5.29	5.32
3	6.71	6.64

Sample 1: capsule; Sample 2,3: tablet

### 3・6 抽出溶媒の検討

水, 0.1% 塩酸, メタノール及び 0.1% 塩酸メタノール液について, その抽出されやすさについて検討したが, 0.1% 塩酸メタノール液を用いるのが最も良いことが分かった。

### 3・7 添加回収実験

試料に, 標準品の一定量を添加し, 回収率の検討を行ったが, いずれの製剤についても, ほぼ 100% の回収率が得られ, その相対標準偏差も定量精度の値と大差がなかった。

### 3・8 製剤中の Ber. の定量

著者らが用いた 3 種の塩化ベルベリン含有製剤につ

いての Ber. の定量結果を Table 1 に示した。いずれの試料についても, 定量値の変動は 1% 前後であった。又, 別途に行った HPLC による定量値と良い一致が認められた。

## 4 結 論

Ber. の CZE による簡便な分析法を確立した。本法により, 製剤中の Ber. が, 前処理などの必要はなく, 短時間に十分な精度で定量できることが分かった。

## 文 献

- 1) D. K. Desae, S. P. Kurani, A. G. Seshadrinnathan: *Indian Drugs*, **25**, 533 (1988).
- 2) S. M. Hassan, F. Belal, M. Sultan: *Talanta*, **35**, 977 (1988).
- 3) R. Bhushan, I. Ali: *J. Planar Chromatogr.-Med.*, **2**, 397 (1989).
- 4) Q. Jiao, R. Yu, Q. Yang, T. Zhao: *Zhongguo Yaoke Daxue Xebao*, **19**, 125 (1988).
- 5) 赤田良信, 河野貞子, 棚瀬弥一郎: 薬学雑誌, **100**, 766 (1980).
- 6) T. Misaki, K. Sagara, M. Ojima, S. Kajizawa, T. Oshima, H. Yoshizawa: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 354 (1982).
- 7) Y. Wang, L. Yu, D. Lin, S. Dong, D. An: *Yaoxue Xebao*, **24**, 275 (1989).



**Determination of berberine chloride in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis.** Yoshinobu AKADA, Nobuyuki ISHI and Yoshito NAKANE (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, 180, Nishihamabouji, Yamashiro-cho, Tokushima-shi, Tokushima 770)

Determination of berberine chloride in pharmaceutical preparations was investigated by capillary electrophoresis. Free zone capillary electrophoresis in phosphate buffer at pH 5.0 gave complete separation of berberine from accompanying substances within 20 min. A sample solution was introduced by hydrostatic method and the on-column detection was performed at 214 nm. The calibration curves of berberine chloride gave good linearity over the concentration range of 10~100  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Berberine chloride in various preparations was determined with good reproducibility.

(Received January 9, 1992)

### Keyword phrases

pharmaceutical analysis; capillary electrophoresis; berberine.