

HPLC 测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量

叶秀金, 宋粉云*

(广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量测定方法。方法: 采用反相高效液相色谱法, Diamonsil C₁₈ 柱, 乙腈-水(54:46) (每 100 mL 中加十二烷基硫酸钠 0.34 g 与磷酸二氢钠 0.17 g, 磷酸调 pH 3.0), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 350 nm, 柱温为室温。结果: 盐酸小檗碱浓度在 5.00~35.00 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.9992$), 平均回收率为 97.6%, 方法精密度 RSD 1.39% ($n=6$)。结论: 该法可用于清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量测定。

[关键词] 清肺抑火丸; 盐酸小檗碱; 含量测定; 高效液相法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0090-03

Determination of Berberine Hydrochloride in Qingfei Yihuowan by HPLC

YE Xiu-jin, SONG Fen-yun*

(Guangdong pharmaceutical university, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for determination of Berberine hydrochloride in Qingfei Yihuo Wan. **Method:** The analysis was performed on a Diamonsil-C₁₈ column using acetonitrile-water (54:46) (every 100 mL add in 0.34 g SDS and 0.17 g NaH₂PO₄, pH adjusted to 3.0 with phosphoric acid) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was 350 nm. **Result:** The linear range of berberine hydrochloride was 5.00-35.00 mg·L⁻¹ ($r=0.9992$). The average recovery for berberine hydrochloride was 97.6%, precision of the method was 1.39% ($n=6$). **Conclusion:** The method can be used for quantitative determination of Berberine hydrochloride in Qingfei Yihuo wan.

[Key words] Qingfei Yihuo wan; berberine hydrochloride; assay; HPLC

清肺抑火丸是由黄柏、栀子、浙贝母、大黄、苦参、黄芩等 10 味中药制成的中药成方制剂, 具清肺止咳、化痰通便之功效。临床用于治疗痰热阻肺所致的咳嗽、痰黄稠黏、口干咽痛、大便干燥。黄柏作为主药, 对其药效也发挥了重要作用, 其中主要有效成分为盐酸小檗碱, 具有解热、解毒等药理作用^[1]。而该产品现行标准^[2]采用 HPLC 测定该制剂中黄芩苷含量, 有文献报道用薄层扫描法测定清肺抑火丸

中小檗碱的含量^[3], 但未见文献报道用 HPLC 测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量。为进一步评价该制剂的质量, 本文建立了 HPLC 法测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱含量, 该法具有分离效果好、灵敏、准确等优点, 可用于该产品的质量的控制。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 双元泵, 可变波长检测器, 化学工作站; 色谱柱为 Diamonsil-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 迪马公司), KQ-400KDB 型高功率数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), 工作频率 40 kHz, 输出功率 400 W。

盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 110713-200609), 清肺抑火丸 (甘肃佛仁制药科技有限公司, 批号 20090502, 20090503, 20090504, 规格 6g/袋), 乙腈为色谱纯, 十二烷基硫酸钠、磷酸二氢

[收稿日期] 2010-07-12

[基金项目] 广东省自然科学基金资助项目 (5002841)

[第一作者] 叶秀金, 在读硕士, 研究方向: 现代仪器分析技术在药物分析中的应用, Tel: 13560230369, E-mail: yexiujin_s@163.com

[通讯作者] * 宋粉云, 教授, 从事药物分析的教学和科研工作, Tel: 13660528126, E-mail: fuhaiwu@163.com

钠、磷酸均为分析纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil- C_{18} 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m, 迪马公司),乙腈-水(54:46)(每100 mL中加十二烷基硫酸钠0.34 g与磷酸二氢钠0.17 g,

磷酸调pH 3.0)为流动相,流速为1.0 mL·min⁻¹,检测波长350 nm,柱温为室温,进样体积10 μ L。理论板数以盐酸小檗碱峰计算应不低于4 000,色谱图见图1。

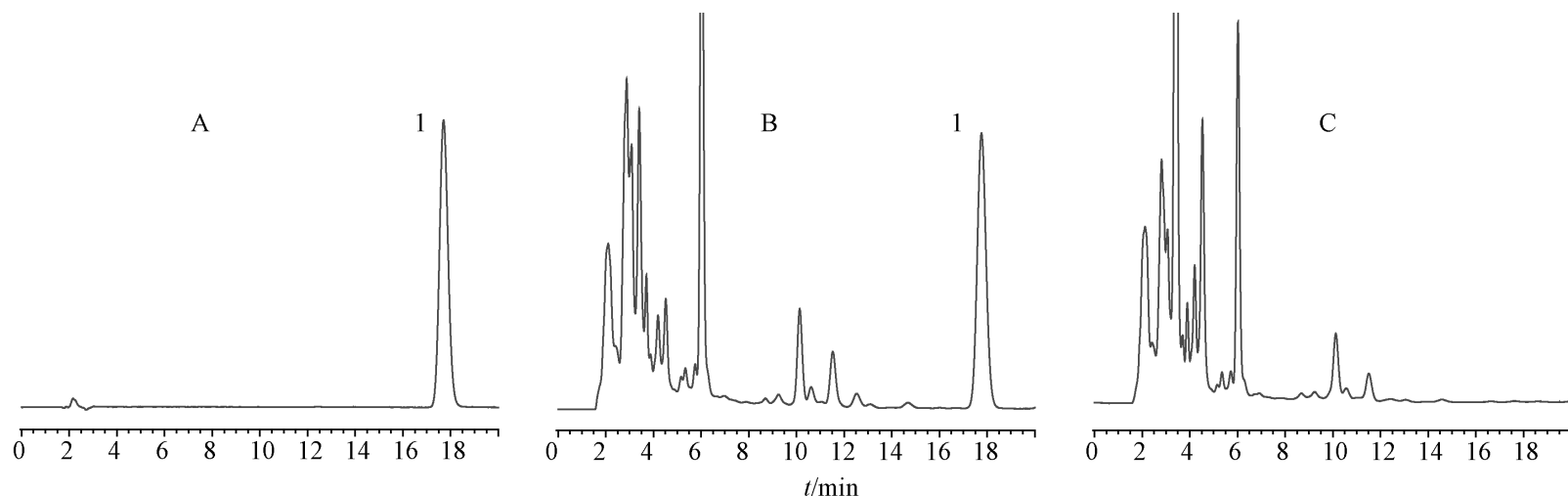


图1 盐酸小檗碱对照品、样品及阴性的高效液相色谱图

1. 盐酸小檗碱; A. 对照品; B. 样品; C. 阴性

2.2 供试品溶液的制备 取清肺抑火丸样品,粉碎,取约0.7 g,精密称定,置100 mL量瓶中,加入盐酸-甲醇(体积比1:100)约95 mL,60℃水浴中加热15 min,取出,超声处理30 min,室温放置过夜,加甲醇至刻度,摇匀,0.45 μ m滤膜过滤,作为供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成100 mg·L⁻¹的盐酸小檗碱溶液,即得。

2.4 阴性对照液的制备 取处方组成中除黄柏外的其余成分制成不含黄柏的阴性对照品,按2.2项下的制备方法处理得阴性对照液。

2.5 线性关系考察 精密量取0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL的盐酸小檗碱对照品溶液,分别置10 mL量瓶中,加甲醇稀释成盐酸小檗碱浓度为5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 mg·L⁻¹的一系列标准溶液。依次进样10 μ L,每个浓度测定3次以上。以峰面积(A)对对照品溶液系列浓度(C)进行回归,得盐酸小檗碱回归方程 $A = 33.51 C - 10.59$,相关系数 $r = 0.999 2$ 。表明盐酸小檗碱在5.0 ~ 35.0 mg·L⁻¹峰面积线性关系良好。

2.6 精密度试验 取浓度为20.0 mg·L⁻¹的盐酸小檗碱对照品溶液10 μ L连续测定5次,其峰面积均值644.3, RSD 0.99%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取供试品溶液(20090504)在0, 1.5, 3, 6, 9, 12 h分别进样10 μ L,记录峰面积,结果盐酸小檗碱峰面积的平均值为613.7, RSD为

2.54%。表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批号(20090504)样品6份,按2.2方法制备,测定,结果盐酸小檗碱平均含量为2.638 mg·g⁻¹, RSD为1.39%。表明分析方法重复性良好。

2.9 加样回收试验 精密称取同一批号样品(20090504)共6份,加入相应量的盐酸小檗碱对照品,按2.2方法制备并测定,计算回收率,结果见表1。盐酸小檗碱平均回收率为97.6%, RSD为1.37%,结果表明本方法准确可靠。

表1 清肺抑火丸中盐酸小檗碱加样回收率试验(n=6)

No.	样品重 /g	样品中的 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.358 4	0.945	1.000	1.915	97.0		
2	0.351 4	0.927	1.000	1.930	100.3		
3	0.357 2	0.942	1.000	1.910	96.8		
4	0.351 7	0.928	1.000	1.899	97.1	97.6	1.37
5	0.351 3	0.927	1.000	1.904	97.7		
6	0.357 3	0.943	1.000	1.913	97.0		

2.10 样品测定 取清肺抑火丸3批,按2.2方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液(20.0 mg·L⁻¹)与供试品溶液各10 μ L,注入液相色谱仪,测得清肺抑火丸中盐酸小檗碱的质量分数分别为2.234, 2.048, 2.638 mg·g⁻¹。

3 讨论

黄柏的主要活性成分为盐酸小檗碱,实验中曾

采用药典黄柏与黄连的含量测定项下的提取方法提取^[1], 并对比了甲醇超声提取等效果。结果显示, 使用黄连的含量测定提取方法即盐酸-甲醇(体积比 1 100) 100 mL, 60 ℃ 水浴中加热 15 min, 超声处理 30 min, 室温放置过夜, 提取率高, 故使用此法提取。

根据文献报道^[4-6], 实验考察了甲醇-乙腈-水与乙腈-水体系, 并加入磷酸二氢钠、冰醋酸、三乙胺、十二烷基硫酸钠等离子对试剂, 改变其含量。发现乙腈-水体系, 以十二烷基硫酸钠、磷酸二氢钠为离子对试剂, 加入磷酸调 pH 3.0, 拖尾因子、分离度等才符合要求。

盐酸小檗碱的最佳测定波长为 230, 265, 340 ~ 350 nm 处均有强度相当的吸收峰^[6], 测定中曾采用 265 nm 波长测定, 但杂质峰干扰较大, 影响测定。经过摸索, 选择 350 nm 波长作为吸收波长, 可消除杂质峰的干扰。

[参考文献]

- [1] 王小逸, 史亦丽, 曾衍钧. 小檗碱的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(7): 523.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 285, 1116.
- [3] 卫恒巧, 李作平, 崔秀彦, 等. 薄层扫描法测定清肺抑火丸中小檗碱和菝葜皂甙元的含量[J]. 河北医学院学报, 1992, 13(4): 199.
- [4] 刘腊娥, 王绪明, 梁爱君, 等. RP-HPLC 测定益柏口服液中黄柏的小檗碱含量[J]. 中成药, 2006, 28(10): 1544.
- [5] 谭生建, 魏萍, 刘刚, 等. HPLC 测定黄柏石膏中盐酸巴马丁和盐酸小檗碱含量[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(7): 546.
- [6] 庞小雄, 宋粉云, 钟兆健, 等. HPLC 法测定拈痛丸中盐酸小檗碱的含量[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(3): 240.

[责任编辑 顾雪竹]

简 讯

据中国高等学校自然科学学报研究会、中国科学技术期刊编辑学会 2009 年统计结果报道, 2008 年《中国实验方剂学杂志》登载的学术论文中, 有 224 篇被美国化学文摘(CA)收录, 标志着《中国实验方剂学杂志》已成为 CA 在国内的主要统计源期刊之一, 也标志着该杂志的学术水平又迈上了一个新台阶。

在此, 谨向热心于《中国实验方剂学杂志》审稿、组稿工作的人员表示衷心感谢, 向各学术论文作者对《中国实验方剂学杂志》工作支持表示诚挚谢意!