

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.19.019

高效液相色谱法测定喉蛾散中盐酸小檗碱含量

陈武军

(福建省漳州市中医院,福建 漳州 363000)

摘要:目的 建立测定喉蛾散中盐酸小檗碱含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱采用 Waters Xridge RShield RP₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈(A)-0.05% 磷酸溶液(B),梯度洗脱,柱温为 30 ℃,检测波长为 265 nm,流速为 1 mL/min,进样量为 5 μL。结果 盐酸小檗碱质量浓度在 7.18~143.60 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $R^2=0.9999$ ($n=5$),平均回收率为 99.52%, RSD 为 1.65% ($n=6$)。结论 该方法操作简便,结果准确,重复性良好,可用于喉蛾散的质量控制。

关键词:喉蛾散;盐酸小檗碱;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)19-0067-03

Content Determination of Berberine Hydrochloride in Hou'e Powder by HPLC

CHEN Wujun

(Zhangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangzhou, Fujian, China 363000)

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography(HPLC) method to determine the content of berberine hydrochloride in Hou'e Powder. **Methods** Waters Xridge Rshield RP₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was acetonitrile(A)-0.05% phosphoric acid solution(B), gradient elution, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 265 nm, the flow rate was 1 mL/min, and the injection volume was 5 μL. **Results** Berberine hydrochloride showed good linear relation with the peak area in the range of 7.18-143.60 μg/mL, $R^2=0.9999$ ($n=5$). The average recovery was 99.52%, RSD was 1.65% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, accurate, accurate and reproducible, which can used for the quality control of Hou'e Powder.

Key words: Hou'e Powder; berberine hydrochloride; high performance liquid chromatography; content determination

喉蛾散是由黄连、黄柏、桔梗、蜜甘草、琥珀、薄荷、硼砂、煅硼砂、珍珠、冰片、甘草、青黛、山豆根等中药组方,具有清热解毒、消肿止痛的功效,适用于咽喉肿痛、口舌生疮、牙龈肿痛等痰热证。黄连、黄柏均有清热燥湿、泻火解毒功效,其主要活性成分为盐酸小檗碱等多种生物碱,具有抗病毒、抗菌消炎、降血压、降血糖、降低血清胆固醇、抗癌、抗心律失常、升白细胞、清热解毒、利胆等生理活性^[1]。为更有效控制喉蛾散的质量,确保患者用药安全有效可控,本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法对喉蛾散中黄连、黄柏所含活性成分盐酸小檗碱进行含量测定。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪,包括紫外检测器,Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);TU-1900

型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);ME104E 型电子天平(精度为万分之一),XP26 型电子天平(精度为百万分之一),均购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;KQ-300DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为 250 W,频率为 40 kHz)。

1.2 试剂

盐酸小檗碱对照品(批号为 110713-201212,纯度为 86.7%,中国食品药品检定研究院);喉蛾散(医院制剂,批号分别为 20190601,20190602,20190701);乙腈为色谱纯(美国 Merk 公司,批号为 JB085530);磷酸为色谱纯(美国 Fisher 公司,批号为 190900);甲醇为分析纯(国药集团化学试剂有限公司,批号为 20190910);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Waters Xridge RShield RP₁₈ 柱(250 mm ×

第一作者:陈武军,男,大学本科,主管中药师,研究方向为中药制剂生产工艺与质量标准,(电子信箱)39975503@qq.com。

- 测定的方法学验证[J]. 食品工业科技,2019,8(23):247-253.
- [9] 曾兰花,张 坤,袁煊合,等. 复方川贝止咳糖浆质量标准的
研究[J]. 广东药科大学学报,2019,35(5):636-641.
- [10] 许栋明,程可建. RP-HPLC 同时测定温胆汤中甘草苷、柚皮
苷、橙皮苷和甘草酸[J]. 中国中药杂志,2011,36(1):45-47.
- [11] 周 军,孙 艳,张 晶,等. HPLC 法测定血府逐瘀颗粒中
芍药苷、阿魏酸、柚皮苷及甘草酸的含量[J]. 药物分析杂志,

- 2009,29(8):1253-1255.
- [12] 高宝云,赵月梅. 橘红合剂中提取柚皮苷的工艺优化[J].
陕西农业科学,2016,62(12):25-26.
- [13] 杨佳静,薛 佳,周华芳,等. HPLC 法同时测定胃苏颗粒中
柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中国药房,2014,25(4):
372-374.

(收稿日期:2020-01-15;修回日期:2020-03-20)

4. 6 mm, 5 μm), 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相: 乙腈(A) - 0.05% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱, 详见表 1; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 265 nm; 流速: 1 mL/min; 进样量: 5 μL 。在此色谱条件下, 理论板数按盐酸小檗碱峰计大于 11 000。

表 1 流动相梯度洗脱程序表

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0 ~ 15	23 → 26	77 → 74
15 ~ 20	26 → 100	74 → 0
20 ~ 22	100 → 23	0 → 77

2.2 溶液制备^[2-3]

对照品溶液: 取盐酸小檗碱 7.18 mg, 精密称定, 加 70% 乙醇溶解并定容至 50 mL, 制成每 1 mL 含盐酸小檗碱 143.60 μg 的对照品母液。

供试品溶液: 取样品(批号为 20190602)0.2 g, 精密称定, 精密加入 70% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率为 250 W, 频率为 40 kHz)30 min, 取出, 放凉, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

阴性对照品溶液: 按喉蛾散处方和工艺制备缺黄连、黄柏阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察^[4]

专属性试验: 取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 5 μL , 按拟订色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中, 在与盐酸小檗碱对照品相应保留时间处有吸收峰, 而缺黄连、黄柏的阴性对照品溶液在对应保留时间处无吸收峰出现, 阴性对照无干扰。色谱图见图 1。

线性关系考察: 分别精密吸取对照品母液 1, 3, 5, 7 mL, 置 20, 10, 10, 10 mL 容量瓶中, 并分别用 70% 乙醇溶剂并定容, 摇匀, 连同母液得系列对照品溶液, 分别精密吸取 5 μL , 按拟订色谱条件进样测定, 以对照品质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 20575X - 2715.7$, $R^2 = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明, 盐酸小檗碱质量浓度在 7.18 ~ 143.60 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液(71.80 $\mu\text{g/mL}$)5 μL , 按拟订色谱条件进样测定, 连续进样 6 次, 计算其峰面积的相对标准偏差。结果的 RSD 为 2.14% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取同一批(批号为 20190602)样品 6 份, 依法制备供试品溶液, 分别精密吸取 5 μL , 按拟订色谱条件进样测定。结果盐酸小檗碱的平均含量为 0.88%, RSD 为 1.87% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 取同一供试品溶液适量, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按拟订色谱条件进样测定。结果的 RSD 为 2.61% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品(批号为 20190602, 盐酸小檗碱的含量为 0.874%)6 份, 每份 0.2 g, 精密称定, 分别精密加入适量盐酸小檗碱对照品, 依法制备供试品溶液, 分别精密吸取 5 μL , 按拟订色谱条件进样测定, 并计算回收率。结果见表 2。

表 2 盐酸小檗碱加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.2014	1.7602	1.7952	3.5236	98.23	99.52	1.65
0.2136	1.8669	1.7952	3.6447	99.03		
0.2207	1.9289	1.7952	3.7305	100.36		
0.2138	1.8686	1.7952	3.6573	99.64		
0.2249	1.9656	1.7952	3.7184	97.64		
0.2194	1.9176	1.7952	3.7529	102.23		

2.4 样品含量测定

取 3 批样品(批号分别为 20190601, 20190602, 20190701), 依法制备供试品溶液, 按拟订色谱条件进样测定, 用外标法计算喉蛾散中盐酸小檗碱的含量。结果见表 3。

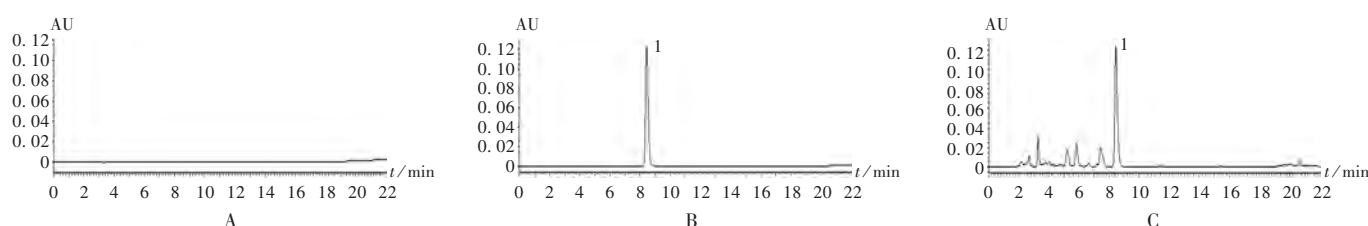
表 3 3 批样品中盐酸小檗碱含量测定结果($n = 3$)

批号	取样量(g)	含量(%)	$\bar{X}$ (%)
20190601	0.2000	0.876	0.877
20190602	0.2015	0.874	
20190701	0.2009	0.882	

3 讨论

3.1 检测波长选择^[5-6]

为尽可能多地采集到丰富的物质成分信息, 参考



1. 盐酸小檗碱

A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

图 1 高效液相色谱图