

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)23-0082-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.23.016



高效液相色谱法测定痛风清消颗粒中盐酸小檗碱含量*

袁 岭¹, 吴 欢², 罗 曼¹, 张武岗^{1,2}, 梁 潇¹, 冯育林^{1,2}, 郭晓秋^{3△}

(1. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330006; 2. 江西本草天工科技有限责任公司, 江西 南昌 330006;
3. 江西中医药大学附属医院, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 建立测定痛风清消颗粒中盐酸小檗碱含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Welch Xtimate® C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 磷酸水溶液(每 100 mL 1% 磷酸水溶液加无水磷酸二氢钠 239.96 mg) - 乙腈(75:25, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 345 nm, 柱温为 35 °C, 进样量为 20 μL。结果 盐酸小檗碱的质量浓度在 0.767 9~76.790 0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($R^2 > 0.999 4$, $n = 7$); 精密度、稳定性、重复性、耐用性试验的 RSD 均小于 3.0%; 平均加样回收率为 104.80%, RSD 为 1.02% ($n = 9$)。3 批样品中盐酸小檗碱的平均含量分别为 0.11, 0.12, 0.14 mg/g ($n = 2$)。结论 该方法操作简便、专属性强、重复性及耐用性均良好、结果准确, 可用于痛风清消颗粒中盐酸小檗碱的含量测定。

关键词: 痛风清消颗粒; 高效液相色谱法; 盐酸小檗碱; 含量测定; 医院制剂

Content Determination of Berberine Hydrochloride in Tongfeng Qingxiao Granules by HPLC

YUAN Ling¹, WU Huan², LUO Man¹, ZHANG Wugang^{1,2}, LIANG Xiao¹, FENG Yulin^{1,2}, GUO Xiaoqiu³

(1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi, China 330006; 2. Jiangxi Bencao Tiangong Technology Co., Ltd., Nanchang, Jiangxi, China 330006; 3. The Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi, China 330006)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the content determination of berberine hydrochloride in Tongfeng Qingxiao Granules. **Methods** The chromatographic column was Welch Xtimate® C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.1% phosphoric acid water solution (239.96 mg of sodium dihydrogen phosphate per 100 mL of 1% phosphoric acid water solution) - acetonitrile (75:25, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the

*基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金项目[20212ZDD02009]; 江西中医药大学首批校级科技创新团队立项项目[CXTD22001]。

第一作者: 袁岭, 男, 硕士研究生在读, 研究方向为中药质量控制, (电子信箱)1648947515@qq.com。

△通信作者: 郭晓秋, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为医院药学、医院制剂及药事管理学, (电子信箱)2358833620@qq.com。

- [4] GAO DW, LI Z, WANG H, et al. An overview of phthalate acid ester pollution in China over the last decade: Environmental occurrence and human exposure[J]. Sci Total Environ, 2018, 645:1400-1409.
- [5] BRASSEAPÉREZ E, HERNÁNDEZ - CAMACHO CJ, LABRADA - MARTAGÓN VB, et al. Oxidative stress induced by phthalates in mammals: state of the art and potential biomarkers[J]. Environ Res, 2022, 206:112636.
- [6] LI ZY, LIU H, LIU H, et al. Dietary exposure and risk assessment of phthalic acid esters through a total diet study in Shenzhen, South China[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2022, 39(9):1591-1603.
- [7] ZHANG Y, YANG Y, TAO Y, et al. Phthalates (PAEs) and reproductive toxicity: Hypothalamic - pituitary - gonadal (HPG) axis aspects[J]. J Hazard Mater, 2023, 459:132182.
- [8] 张文华, 吉丽娜, 冯 靖, 等. 药包材相容性研究中邻苯二甲酸酯类增塑剂的安全性评估[J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(9):533-536.
- [9] 国家卫生和计划生育委员会. GB 9685-2016 食品安全国家标准 食品接触材料及制品用添加剂使用标准[S/OL]. (2016-10-19)[2025-02-01]. https://www.nhc.gov.cn/wjw/c100175/201611/f2cf66762b054f7b87b26da7a620533c.shtml.
- [10] 咎艳楠, 张晓芸, 商少华, 等. 液液萃取/气相色谱-质谱法测定氟[¹⁸F]脱氧葡萄糖注射液塑料生产组件浸提液中 16 种邻苯二甲酸酯类增塑剂[J]. 分析测试学报, 2023, 42(3):357-362.
- [11] 聂 叶, 赵振宇, 曾稳稳, 等. UPLC-Q/Orbitrap HRMS 同时测定塑料类食品接触材料及制品中增塑剂特定迁移量[J]. 中国酿造, 2021, 40(1):164-168.
- [12] 高 彦, 鹿泽华, 职启航, 等. 气相色谱法测定吸附破伤风疫苗中 17 种邻苯二甲酸酯类增塑剂[J]. 药物分析, 2023, 43(3):463-471.
- [13] 冯徐根, 杨 萌, 韩 军. 气质联用法同时测定纺织品中 17 种邻苯二甲酸酯类增塑剂[J]. 质量安全与检验检测, 2023, 33(4):16-22.
- [14] 王成云, 唐莉纯, 林君峰, 等. 高效液相色谱法同时测定皮革制品中 22 种邻苯二甲酸酯[J]. 中国皮革, 2021, 41(19):34-37.
- [15] 叶汝汉, 王成刚, 张广文, 等. 高效液相色谱-质谱法测定五层共挤输液用袋中的抗氧化剂、增塑剂和紫外吸收剂[J]. 理化检验:化学分册, 2017, 53(3):333-337.

(收稿日期: 2025-02-08; 修回日期: 2025-08-19)

detection wavelength was 345 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 20 μL. **Results** The linear range of berberine hydrochloride was 0.767 9 – 76.790 0 μg / mL ($R^2 > 0.999\ 4$, $n = 7$). The *RSDs* of precision, stability, repeatability, and durability tests were all lower than 3%. The average recovery rate of berberine hydrochloride was 104.80%, with an *RSD* of 1.02% ($n = 9$). The average contents of berberine hydrochloride in the three batches of samples were 0.11, 0.12, and 0.14 mg / g ($n = 2$), respectively. **Conclusion** This method is simple, highly specific, and accurate, and it has good repeatability and durability, which can be used for the content determination of berberine hydrochloride in Tongfeng Qingxiao Granules.

Key words: Tongfeng Qingxiao Granules; HPLC; berberine hydrochloride; content determination; hospital preparation

痛风清消颗粒由白术、麸炒苍术、盐关黄柏、麸炒薏苡仁、绵萆薢、重楼、蒲公英、土茯苓、青风藤等 15 味中药材组方,具有健脾益气、清热化湿功效,常用于湿热蕴结型急性痛风性关节炎。该方临床应用多年,安全、无毒副作用,治疗湿热痹阻型痛风性关节炎、急性痛风发作的临床疗效确切^[1-3]。痛风多源于体内尿酸生成过多或排泄不畅时,尿酸沉积,形成尿酸结晶后,关节反复疼痛,从而引发痛风发作。随着饮食及生活习惯的改变,痛风的患病率呈逐年上升趋势^[4-5]。据报道,痛风清消颗粒可有效增加尿酸代谢途径,增强机体免疫力^[3,6],且治疗痛风更安全、有效^[7-8]。故本研究中参考 2020 年版《中国药典(一部)》及文献^[9-15],建立了测定痛风清消颗粒中盐酸小檗碱含量的高效液相色谱(HPLC)法,为加强其质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

AB104 - N 型电子天平(精度为 0.01 g), AR5120 型电子天平(精度为 0.1 mg), MS205DU 型分析天平(精度为 0.01 mg), 均购自梅特勒 - 托利多仪器(上海)有限公司; KQ - 250DB 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司, 功率为 250 W, 频率为 135 kHz); LC - 20AT 型 HPLC 仪(日本 Shimadzu 公司); SMART - P 型纯水仪(力康生物医疗科技控股有限公司)。

1.2 试药

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 110712 - 202015, 纯度为 85.9%); 痛风清消颗粒(江西中医药大学附属医院医院制剂, 批号分别为

20230614, 20230615, 20230616, 规格为每袋 15 g); 缺盐关黄柏阴性样品(实验室自制); 乙腈(美国 Thermo Fisher 公司); 磷酸(山东西亚化学工业有限公司); 无水磷酸二氢钠(色谱纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

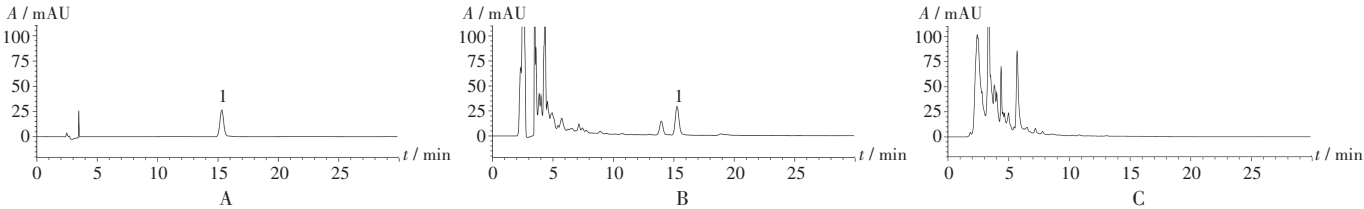
色谱柱: Welch Xtimate® C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 磷酸水溶液(每 100 mL 1% 磷酸水溶液加无水磷酸二氢钠 239.96 mg) - 乙腈(75:25, V/V); 流速: 1.0 mL / min; 检测波长: 345 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 μL。理论板数按盐酸小檗碱峰计应不低于 4 000。

2.2 溶液制备

取盐酸小檗碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含盐酸小檗碱 7.679 μg 的对照品溶液。取痛风清消颗粒粉末(过 3 号筛) 1.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率为 250 W, 频率为 50 kHz) 30 min, 放冷, 再次称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 即得供试品溶液。取缺盐关黄柏阴性样品粉末(过 3 号筛) 1.5 g, 按供试品溶液制备方法制备缺盐关黄柏的阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验: 分别精密吸取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 20 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现, 且阴性对照无干扰, 表明方法专属性良好。详见图 1。



1. 盐酸小檗碱
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. Berberine hydrochloride

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,按 2.2 项下方法制备质量浓度为 76.79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品贮备液。精密量取对照品贮备液适量,加甲醇稀释成质量浓度分别为 0.767 9, 1.536 0, 3.840 0, 7.679 0, 15.360 0, 38.400 0, 76.790 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,以盐酸小檗碱质量浓度(X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 93\,571.926\,1\,X - 10\,079.904\,0$, $R^2 = 0.999\,4$ ($n = 7$)。结果表明,盐酸小檗碱的质量浓度在 0.767 9 ~ 76.790 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,按 2.2 项下方法制备质量浓度为 2.96 mg/mL 的对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别于 1 d 内连续进样测定 6 次或 2 d 分别进样测定 6 次,记录峰面积。结果的 RSD 分别为 0.97% ($n = 6$) 和 1.32% ($n = 12$),表明仪器日内和日间精密度均良好。

稳定性试验:取样品(批号为 20230615)适量,精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于室温放置 0, 3, 6, 9, 12, 15, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 1.23% ($n = 7$),表明供试品溶液室温放置 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为 20230615)适量,平行 6 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果的 RSD 为 1.24% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(批号为 20230615)适量,精密称定,平行 9 份,分别置 50 mL 容量瓶中,分别加入对照品 0.164 5, 0.193 6, 0.242 0 mg , 各 3 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.752 8	0.201 3	0.164 5	0.374 4	105.23	104.80	1.02
0.751 9	0.201 1	0.164 5	0.375 1	105.78		
0.751 9	0.201 1	0.164 5	0.375 0	105.71		
0.752 6	0.201 2	0.193 6	0.404 7	105.11		
0.751 8	0.201 0	0.193 6	0.403 9	104.80		
0.751 5	0.201 0	0.193 6	0.404 0	104.86		
0.751 9	0.201 1	0.242 0	0.456 1	105.37		
0.753 3	0.201 4	0.242 0	0.453 1	104.01		
0.756 6	0.201 6	0.242 0	0.449 2	102.31		

耐用性试验:取样品(批号为 20230615)适量,精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别考察不同

柱温(30, 35, 40 $^{\circ}\text{C}$), 不同型号 HPLC 仪(Waters 2998 型、LC-20AT 型), 不同型号色谱柱[Welch Xtimate[®] C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), YMC-Pack ODS-A 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Cosmosil 5C-18-MS-II 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)], 其余条件按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 分别为 0.49% ($n = 3$), 1.67% ($n = 2$), 2.42% ($n = 3$), 表明方法耐用性良好。

2.4 含量测定

取 3 批(批号分别为 20230614, 20230615, 20230616)样品各适量,精密称定,各平行 2 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量。结果 3 批样品中盐酸小檗碱的平均含量分别为 0.11, 0.12, 0.14 mg/g ($n = 2$)。

3 讨论

3.1 医院制剂独特优势

医院制剂多源于名老中医的经验处方,历经临床长期、反复实践,临床疗效确切,在满足中医药临床需求时,弥补了传统中药汤剂在配药、煎煮、携带、运输等方面的不足,并在继承名老中医药专家学术经验、推动学科发展、填补市场药品不足等方面都起到了积极作用^[15-16]。近年来,随着中医药事业的发展,医院制剂逐渐被各大医疗机构重视,故提高制剂质量、推进中药制剂研发迫在眉睫^[17]。痛风清消颗粒是基于江西省中医院邓运明教授根据古方四妙散自拟临床经验方制成的医院制剂,具有院内制剂的独特优势。本研究中采用 HPLC 法测定痛风清消颗粒中盐酸小檗碱的含量,旨在建立其质量标准,使其成为质量可控、服用及携带方便的医院制剂。

3.2 指标性成分选择

痛风清消颗粒由 15 味中药材组方,前期研究中分别考察了方中君药、臣药的主要成分。参照 2020 年版《中国药典(一部)》和文献^[18-20]的提取、制备方法及分析条件发现,方中君药、臣药主要含苍术素、甘油三油酸酯、桉油精、怀菟甾酮等含量过低或 HPLC 法无法检测出的成分,而臣药盐关黄柏中所含盐酸小檗碱的含量相对较高,色谱峰无阴性干扰,且其主要药效学成分盐酸小檗碱具有显著抗炎、降尿酸和保护肾脏的作用^[21-22],能有效治疗痛风,故本研究中选择臣药盐关黄柏中的盐酸小檗碱为指标性成分。

3.3 提取溶剂与时间选择

预试验中分别考察了 50 mL 不同提取溶剂(甲醇、25% 甲醇、水)超声提取(频率为 250 W,功率为 50 kHz) 30 min 的效果,结果样品中盐酸小檗碱含量分别为 0.27, 0.11, 0.06 mg/g , 表明甲醇为最佳提取溶剂。进一步以甲醇为提取溶剂,考察不同提取时间(30, 45,

60 min) 的提取效果, 结果样品中盐酸小檗碱的含量均为 0.27 mg/g, 表明 30 min 已充分提取。故最终选择提取条件为用 50 mL 甲醇超声提取 30 min。

3.4 流动相选择

预试验中参考文献[23]考察了不同流动相体系[乙腈-水溶液, 甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(pH 为 9~10), 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(每 100 mL 加十二烷基硫酸钠 0.4 g, 调 pH 至 4), 乙腈-0.1% 磷酸水溶液(每 100 mL 0.1% 磷酸水溶液加无水磷酸二氢钠 239.96 mg)], 以及乙腈-0.1% 磷酸水溶液(每 100 mL 0.1% 磷酸水溶液加无水磷酸二氢钠 239.96 mg) 不同比例(10:90, 13:87, 25:75, 30:70)。最终选择 2.1 项下流动相, 此条件下的色谱峰峰形、分离度、理论板数、拖尾因子均符合要求。另外, 需严格控制流动相中有机相和水相的比例, 配制后需充分振摇均匀, 检测过程中须密封流动相瓶口, 以避免乙腈挥发, 比例改变导致保留时间滞后。

3.5 方法评价

本研究中的方法操作简便、专属性强、重复性及耐用性均良好、结果准确, 可用于痛风清消颗粒中盐酸小檗碱的含量测定。

参考文献

- [1] 李华南. 邓运明教授学术思想传承研究及其治疗痛风性关节炎经验总结[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [2] 李华南, 吴谋建, 刘峰, 等. 痛风清消颗粒治疗湿热蕴结型急性痛风性关节炎的临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2014, 12(18): 11-13.
- [3] 涂宏, 鲍杰伟, 涂瑞芳, 等. 痛风清消颗粒治疗痛风性关节炎 30 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(24): 35-37.
- [4] 彭紫凝, 邓茜, 孟凡雨, 等. 痛风“湿-热-寒-瘀-虚”复杂病机网络及生物学基础研究进展[J]. 世界中医药, 2024, 19(23): 3725-3730.
- [5] 中国中西医结合学会风湿类疾病专业委员会. 痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南[J]. 中医杂志, 2023, 64(1): 98-106.
- [6] 李华南, 陈浩, 顾兵, 等. 痛风清消颗粒急性毒性实验研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2017, 15(6): 132-133.
- [7] 陈丁鹏. 基于中医传承计算平台 V3.0 探究邓运明教授治

疗痛风辨证用药规律及学术思想研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.

- [8] 耿铮, 车慧, 苏丹. 加味左金丸质量标准提高研究[J]. 中药材, 2014, 37(1): 137-140.
- [9] 赵婷婷. 前列爽颗粒的制备工艺及质量标准研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2020.
- [10] 苏佳昇. 壮药金母颗粒的质量标准研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2020.
- [11] 李瑛. 痹苓祛痛颗粒的制备工艺及质量控制研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2015.
- [12] 廖明辉, 熊文峰, 董学英, 等. 高效液相色谱法测定峨眉山野生川黄连中盐酸小檗碱含量[J]. 中国处方药, 2022, 20(5): 21-23.
- [13] 彭军良, 胡小苏, 姚向阳, 等. 敛痔散医院制剂质量标准初步研究[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(11): 145-147.
- [14] 翁子依. 黄连提取物掩味颗粒的制备与质量研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2023.
- [15] 崔一然, 吴剑坤. 基于名老中医经验处方的医院中药制剂发展现状及转化策略[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(2): 671-674.
- [16] 王雪花. 医院中药制剂的特色优势及其工艺研究探析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(19): 132-135.
- [17] 丘振文, 周本杰, 唐洪梅, 等. 浅谈医院制剂的发展现状[J]. 中国医药导刊, 2022, 24(5): 446-449.
- [18] 刘芬, 詹光杰, 张波, 等. 苍术、麸炒苍术有效成分含量测定的研究[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2024, 41(1): 45-48.
- [19] 李晓敏, 张文涛, 孙艳涛. 不确定度评定在川牛膝中杯苊甾酮含量测定中的应用[J]. 海峡药学, 2025, 37(1): 22-26.
- [20] 余欣彤, 钟文峰, 黎桃敏, 等. 薏苡仁饮片、水煎液、配方颗粒的 HPLC 指纹图谱相关性研究[J]. 中国药师, 2022, 25(8): 1352-1357.
- [21] 吴晶. 苍柏祛痛胶囊药效学研究和质量控制体系建立[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- [22] 李敏, 李莉, 全云云, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨黄柏治疗痛风的作用机制[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(7): 1235-1246.
- [23] 贾艾玲, 王仁广, 董雪莲, 等. 不同生长年限黄檗树枝与关黄柏中生物碱类成分相关性研究[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(4): 45-51.

(收稿日期: 2024-12-27; 修回日期: 2025-09-13)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号: 78-130, 各地邮局均可订阅; 补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真: (023) 86592565

网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或中国药业在线投稿系统