文章编号:1000-5404(2007)02-0179-02

技术方法

反相高效液相色谱法测定黄连生药中盐酸小檗碱的含量

徐 颖[1], 周世文[1], 汤建林[1], 陈 莎[2] (第三军医大学:[1]新桥医院国家药品临床研究基地,重庆 400037,[2]医学检验系临床生物化学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 建立高效液相色谱法测定黄连生药中盐酸小檗碱含量的方法。**方法** 采用Hypesil. ODS_2(5 μm, 4.6 mm×150)色谱柱,以乙腈:水(42:58,含磷酸二氢钾25 mmol/L,十二烷基磺酸钠6.2 mmol/L)为流动相,流速:1.0 ml/min,检测波长:350 nm,柱温为室温。**结果** 盐酸小檗碱在10.08~201.6 μg/ml范围内线性关系良好,$r=0.999\,9$,加样回收率为99.36%, RSD=1.89%, S/N≥3。**结论** 本方法简便,快速,精密度高,重现性好,可用于黄连中盐酸小檗碱的质量控制。

药典中黄连原植物来源有3种:毛茛科植物黄(*Coptis chinensis Franch*)、三角叶黄连(*Coptis dletoidea C. Y. Cheng et Hsiao.*)和云连(*Coptis teeta Wall*)分别被称为"味连"、"雅连"、"云连"。石柱黄连为毛茛科黄连,多年生草本植物,含有多种生物碱,其中含量最高的为盐酸小檗碱,又名黄连素,其含量可达5%~8%,属异喹啉生物碱,具有抗菌、抗病毒、抗心律失常、保护缺血心肌、降血压、降血糖、抗胃溃疡、抗肿瘤及抗HIV等药理作用,临床上广泛应用[1]。

黄连总碱中盐酸小檗碱水溶性较好,含量较高,但在制剂的制备过程中容易被破坏。因此,测定其含量对控制黄连的质量具有重要意义。中国药典2000年版采用薄层扫描法测定制剂中的盐酸小檗碱的含量,方法较复杂,操作不方便。本研究采用改良的反相高效液相色谱法测定盐酸小檗碱的含量[2],方法简便、快速、灵敏性、准确性和重复性好[3,4]。

1 材料与方法

1.1 仪器

美国Beckman公司高效液相色谱仪,包括System Gold 126多溶剂输送泵,System Gold 166紫外检测器,32 karat色谱工作站;日本岛津紫外分光光度仪(UV-2450)

1.2 试剂

药材:石柱黄连(*Coptis chinensis Franch*,经张诗平副主任药师鉴定);对照品:盐酸小檗碱(中国药品生物制品检定所提供,批号:0713-200107);试剂:乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯;所有试剂进柱前均过0.22 μm滤膜。

1.3 色谱条件

流动相:乙腈:水=42:58(含磷酸二氢钾25 mmol/L,十二烷基磺酸钠6.2 mmol/L),色谱柱:Hypesil. ODS_2(5 μm, 4.6 mm×150),S/N≥3;柱温:室温;检测波长:350 nm;流速:1.0 ml/min;进样量20 μl。

1.4 对照品溶液的制备

精密称取盐酸小檗碱对照品10.08 mg,加甲醇溶解,定容于10 ml容量瓶中,使成1.008 mg/ml的储备液存放于-4 ℃冰箱,备用。

1.5 供试品溶液的制备

将干燥后的黄连研磨成细粉,称取131.80 g,用乙醇回流提取黄连小檗碱,80%乙醇回流提取3次,第1次加6倍量乙醇,提取2 h,第2次加5倍量乙醇,提取1.5 h,第3次加4倍量乙醇,提取1.5 h,得34.22 g浸膏,每克浸膏含3.8 g生药,精密称取黄连浸膏1.001 02 g,用甲醇溶解,定容于50 ml容量瓶,吸取1 ml于10 ml容量瓶中定容至刻度,再吸取1 ml于10 ml容量瓶中定容至刻度,使成0.200 204 mg/ml的供试品溶液。

1.6 线性关系考察

分别精密吸取储备液转移到10 ml容量瓶中,用甲醇定容至刻度,使成201.6、100.8、50.4、25.2、10.08 μg/ml的对照品溶液。按照"色谱条件"项下操作,精密吸取上述配好的各浓度的对照品溶液各20 μl,由低浓度到高浓度进样,记录峰面积,以盐酸小檗碱峰面积积分值对盐酸小檗碱进样量进行线性回归。

1.7 精密度试验

称取干燥盐酸小檗碱对照品7.34 mg置于小烧杯中,用甲醇溶解并转移到10 ml容量瓶中,加甲醇定容至刻度,精密吸取该液1 ml,转移到10 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,即得盐酸小檗碱对照品溶液(73.4 μg/ml),照上述色谱条件操作,精密吸取该液20 μl,重复进样测定5次,考察本方法精密度。

1.8 稳定性试验

精密吸取20 μl同一供试品溶液,在上述相同色谱条件下,分别于0、0.5、1.5、3、8、24、32、48 h重复进样,量取峰面积,测定供试品稳定性。

1.9 加样回收试验

精密量取已知盐酸小檗碱含量的同一批供试品5份,各

作者简介:徐 颖(1971-),女,江苏省江宁县人,博士,主管药师,主要从事糖尿病肾病方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68755311, E-mail: ylid@mail.tmmu.com.cn
通讯作者:周世文,电话:(023)68755311
收稿日期:2005-10-27;修回日期:2006-06-23

2.0 ml 置 10 ml 量瓶中，各精密加入每毫升含盐酸小檗碱对照品 10 μg 的甲醇溶液 5 ml，震摇，混合后加甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液 20 μl，在上述相同色谱条件下分别进样，量取峰面积测定，并计算回收率。

1.10 供试品含量测定

精密吸取三批供试品溶液各 20 μl，照上述色谱条件，进样，记录峰面积，测定并计算供试品的含量。

2 结果

2.1 色谱行为

在选定的色谱条件下，供试品紫外扫描在 350 nm 处有最大吸收峰（图 1），对照品和供试品的 HPLC 谱图分别见图 2。

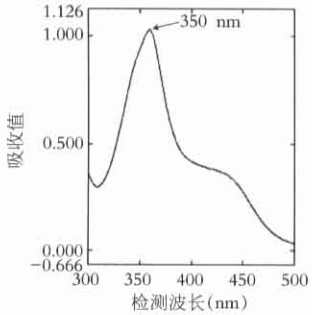
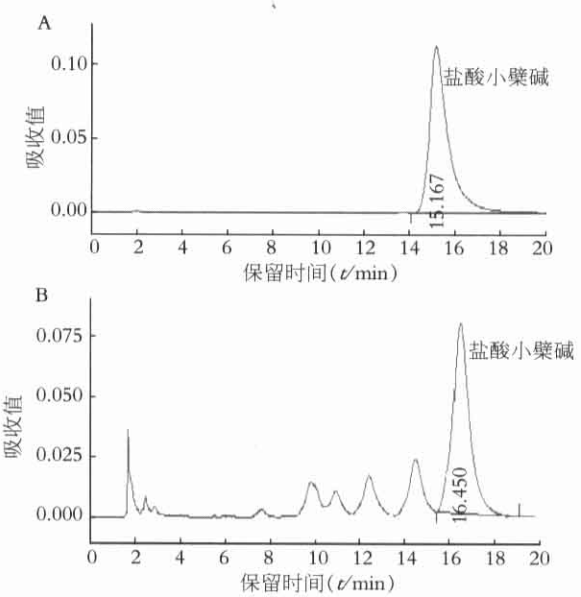


图 1 供试品紫外扫描在 350 nm 处有最大吸收



A：对照组；B：供试品

图 2 盐酸小檗碱 HPLC 色谱

2.2 线性范围

测得盐酸小檗碱线性范围为 10.08 ~ 201.6 μg/ml，直线回归方程为 Y = 1 222 294.2 + 74 782.46X，r = 0.999 9。

2.3 精密度

同一对照品溶液重复进样 5 次，结果平均峰面积为 5 925 363，RSD 为 1.57%。

2.4 稳定性

同一供试品溶液在 0 ~ 48 h 8 个不同时相点进样，结果平均峰面积为 7 311 088，RSD 为 1.07%。

2.5 回收率

结果见表 1。取供试品适量使其中含盐酸小檗碱 8.072 μg/ml，加入盐酸小檗碱对照品溶液（5.04 μg/ml），1 ml，共 5 份，照上述样品测定法测定，X = 99.36，RSD = 1.89%。

表 1 盐酸小檗碱回收率试验结果

序号	样品含量 (μg/ml)	加入量 (μg/ml)	测得量 (μg/ml)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	8.072	5.04	13.05	98.7		
2	8.072	5.04	13.13	100.4		
3	8.072	5.04	12.93	96.4	99.36	1.89
4	8.072	5.04	13.01	100.1		
5	8.072	5.04	13.17	101.2		

2.6 供试品的含量

精密吸取 3 批供试品溶液各 20 μl，照上述色谱条件，分别进样，测得黄连浸膏中含盐酸小檗碱（16.42 ± 1.6）%，生药中含盐酸小檗碱（4.37 ± 0.4）%，RSD 为 9.2%。

3 讨论

采用高效液相色谱法测定制剂中盐酸小檗碱含量已有文献报道，但由于制剂组成成分不同，所用流动相与制剂中检测波长也不完全相同。本试验曾试用多种比例溶剂系统对黄连药材中小檗碱含量的测定，最后确定以乙腈：水 = 42：58 为流动相，检测波长为 350 nm。本研究从分离度及峰形对流动相系统进行评价，并对选定的色谱条件进行了优化，改良了用 HPLC 测定黄连药材中盐酸小檗碱的方法。此方法分离效果好，简便快速，定量准确，灵敏度高，重现性好，可作为黄连产品的质量控制方法。

关键词：黄连；盐酸小檗碱；高效液相色谱法

中图法分类号：R284 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] 王春明，许丽杰，黄庆柏. HPLC 法测定静灵口服液中盐酸小檗碱的含量[J]. 药物分析杂志，1995，15(4)：38 - 39.

[2] 潘 扬，王天山，郭立玮，等. HPLC 法测定糖渴清片中小檗碱、掌叶防己碱和药根碱的含量[J]. 南京中医药大学学报，1996，12(6)：25 - 27.

[3] 宋霄宏，昝日增. HPLC 法测定胃炎平颗粒剂中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志，2003，9(1)：14 - 16.

[4] 万玉萍，沈其萍. HPLC 法同时测定复方洗液中的盐酸掌叶防己碱和盐酸小檗碱的含量[J]. 实用预防医学，2002，9(6)：653 - 654.

（编辑 薛国文）