

RP-HPLC法同时测定复方黄连洗剂中黄芩苷、盐酸小檗碱的含量

贲彦鸿*(广州市黄埔区食品药品检验所, 广州 510700)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)15-2145-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.15.47

摘要 目的:建立同时测定复方黄连洗剂中黄芩苷、盐酸小檗碱含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈,流动相为0.2%磷酸水溶液-乙腈(75:25, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为275 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:黄芩苷、盐酸小檗碱进样量分别在0.078 8~3.153 μg($r=0.999\ 2$)和0.026 2~0.786 μg($r=0.999\ 8$)范围内与峰面积呈良好的线性关系;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均≤1.66%;平均加样回收率分别为98.05%(RSD=1.61%, $n=9$)、99.18%(RSD=1.25%, $n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于复方黄连洗剂中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量测定。

关键词 复方黄连洗剂;高效液相色谱法;黄芩苷;盐酸小檗碱;含量测定

Content Determination of Baicalin and Berberine Hydrochloride in Compound Huanglian Lotion by RP-HPLC

BEN Yan-hong(Guangzhou Huangpu District Institute for Food and Drug Inspection, Guangzhou 510700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of baicalin and berberine hydrochloride in Compound huanglian lotion. METHODS: RP-HPLC was conducted. The column was Kromasil C₁₈ with the mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 275 nm, column temperature was 30 ℃ and the volume was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the volume of baicalin and peak area in the range of 0.078 8-3.153 μg($r=0.999\ 2$) and berberine hydrochloride in the range of 0.026 2-0.786 μg($r=0.999\ 8$); the RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.66% and the average recovery was respectively 98.05%(RSD=1.61%, $n=9$) and 99.18%(RSD=1.25%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for the content determination of baicalin and berberine hydrochloride in Compound huanglian lotion.

KEYWORDS Compound huanglian lotion; HPLC; Baicalin; Berberine hydrochloride; Content determination

复方黄连洗剂为广州市黄埔区中医院院内制剂,处方由黄芩、黄连、黄柏、大黄、苦参组成,具有消炎止痒之功效,临床主要用于治疗皮肤湿疹、痱子。目前,该制剂质量标准只有薄层色谱鉴别,没有含量测定内容,且未见国内相关刊物对该制剂含量测定进行报道,因此完善其质量标准十分必要。笔者参考相关文献^[1-10],采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法同时测定复方黄连洗剂中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量,以为其质量标准的提高提供参考。

1 材料

2695型HPLC仪,包含2996二极管检测器(美国Waters公司);XP26电子分析天平(瑞士Mettler-toledo有限公司);2300T型超声波清洗器(上海安谱科学仪器有限公司)。

黄芩苷对照品(批号:110715-200815,纯度:95.2%)、盐酸小檗碱对照品(批号:110713-200911,纯度:86.8%)均由中国食品药品检定研究院提供;复方黄连洗剂(批号:141121、141201、150103)由广州市黄埔区中医院提供;乙腈、磷酸、甲醇均为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

*主管中药师,硕士。研究方向:复方中药有效成分及分子药理学研究。电话:020-82101513。E-mail:cherry-yezi@163.com

色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.2%磷酸水溶液-乙腈(75:25, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长:275 nm^[2];进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别取黄芩苷对照品、盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成质量浓度分别为0.414、0.201 mg/ml的对照品贮备液。分别精密量取上述对照品贮备液2、1.5 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制得黄芩苷和盐酸小檗碱质量浓度分别为0.082 8、0.030 2 mg/ml的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取供试品5 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇适量,超声(功率:200 W,频率:80 kHz)处理15 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取含待测药材外的其他药材,按处方比例和制法,制备不含黄芩和不含黄连、黄柏的阴性样品以及3种药材均不含的总阴性样品,分别按“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.3 专属性试验

分别吸取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进行测定,色谱见图1。由图1可知,供试品与对照品色谱中黄芩苷和盐酸小檗碱保留

时间分别为11.31、15.67 min,各阴性对照色谱无相应色谱峰,表明处方中其他成分对本法无干扰。

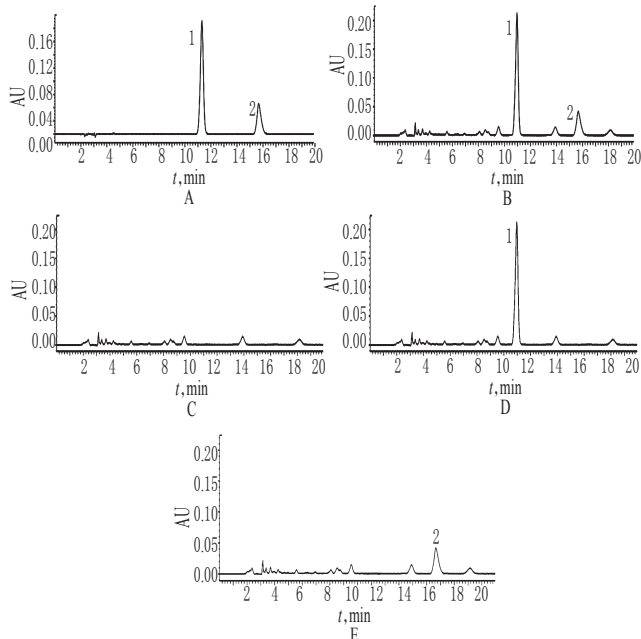


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品溶液;B.供试品溶液;C.总阴性样品溶液;D.不含黄连、黄柏的阴性样品溶液;E.不含黄芩的阴性样品溶液;1.黄芩苷;2.盐酸小檗碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference solution;B.test sample;C.total negative sample solution;D.negative sample solution without coptidis chinensis and cortex phellodendri;E.negative samples solution without radix scutellariae;1.bicalin; 2.berberine hydrochloride

2.4 线性关系考察

分别精密吸取1、2、5、10、20、30、40 μl混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得黄芩苷和盐酸小檗碱的回归方程分别为 $y=3.477 \times 10^6 x + 93\ 076$ ($r=0.999\ 2$)、 $y=3.867 \times 10^6 x + 23\ 678$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,黄芩苷和盐酸小檗碱的进样量在0.078 8~3.153 μg和0.026 2~0.786 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样,连续测定5次。结果,黄芩苷和盐酸小檗碱峰面积的RSD分别为0.31%、0.12%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取供试品(批号:141121)适量,分别于室温放置0、2、4、8、16、24、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,黄芩苷和盐酸小檗碱峰面积的RSD分别为1.66%、1.36%,表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:141121)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果,黄芩苷和盐酸小檗碱含量的RSD分别为1.23%、1.25%,表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的供试品(批号:141121),共9份,精密加入

“2.2.1”项下黄芩苷和盐酸小檗碱对照品贮备液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

待测成分	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
黄芩苷	0.346 1	0.277 0	0.615 9	97.40	98.05	1.61
	0.346 1	0.277 0	0.611 2	95.70		
	0.346 1	0.277 0	0.612 1	96.03		
	0.346 1	0.346 2	0.688 9	99.02		
	0.346 1	0.346 2	0.685 8	98.12		
	0.346 1	0.346 2	0.687 2	98.53		
	0.346 1	0.415 1	0.750 8	97.49		
	0.346 1	0.415 1	0.762 2	100.24		
	0.346 1	0.415 1	0.760 9	99.93		
盐酸小檗碱	0.089 6	0.069 9	0.158 1	98.00	99.18	1.25
	0.089 6	0.069 9	0.158 5	98.57		
	0.089 6	0.069 9	0.157 8	97.57		
	0.089 6	0.089 8	0.179 2	99.78		
	0.089 6	0.089 8	0.177 5	97.88		
	0.089 6	0.089 6	0.178 5	99.22		
	0.089 6	0.109 6	0.200 2	100.91		
	0.089 6	0.109 6	0.199 4	100.18		
	0.089 6	0.109 6	0.199 8	100.55		

2.9 样品含量测定

取3批样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3, mg/ml)

批号	黄芩苷	盐酸小檗碱
141121	0.346 1	0.089 6
141201	0.354 8	0.090 6
150103	0.341 1	0.091 5

3 讨论

3.1 流动相的选择

试验中笔者分别以0.2%磷酸水溶液-乙腈不同的流动相体积配比(80:20、75:25、70:30)进行测定。结果,以0.2%磷酸水溶液-乙腈(75:25, V/V)为流动相时,供试品中各组分分离度好,峰对称性满足测定要求,基线稳定,因此选择其作为本研究的流动相。

3.2 提取方式的选择

笔者在供试品制备时比较了70%乙醇和甲醇两种不同溶剂的超声提取效果,结果,70%乙醇提取量较甲醇低,故选择甲醇为提取溶剂。同时,又比较了甲醇超声15、30、60 min时供试品待测成分的含量,结果各成分含量基本相当,故选择甲醇超声15 min为本试验的提取方式。此外,试验中发现,在供试品取样时,摇匀取样与取上清样待测成分含量有较大差别。建议取样时应先振摇供试品,待供试品充分混匀后再取样。

综上所述,本方法操作简单、结果准确,可用于复方黄连洗剂中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量测定。

参考文献

[1] 高洪琳,刘小兵,肇鑫宇,等.RP-HPLC法同时测定炎可宁片中6种成分的含量[J].沈阳药科大学学报,2014,31

HPLC-DAD-ESI-MS 法定性分析木香顺气丸甲醇提取物中的化学成分

王嘉林^{1*}, 王斯坦²(1. 洛阳市食品药品检验所, 河南 洛阳 471023; 2. 无锡瑞年实业有限公司, 江苏 无锡 214092)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)15-2147-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.15.48

摘要 目的: 建立定性分析木香顺气丸甲醇提取物中多种化学成分的方法。方法: 采用高效液相色谱(HPLC)-二极管阵列(DAD)-电喷雾电离质谱(ESI-MS)法。色谱柱为Eclipse XDB C₁₈, 二元线性梯度洗脱, 柱温为35℃; ESI离子源泉, 正负离子分别扫描。结果: 通过与DAD、ESI、MS联用, 获得8个化合物的准分子离子峰[M+H]⁻及分子加钠峰[M+Na]⁺; 同时利用质谱的碰撞诱导解离(CID)技术, 获得二级质谱信息, 并结合保留时间和参考文献信息, 对8个化合物进行了确证。得到黄酮类成分柚皮苷、异柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草苷, 木脂素类成分厚朴酚、和厚朴酚以及生物碱类成分辛弗林。结论: 该方法可定性分析木香顺气丸中的有效组分。

关键词 高效液相色谱-二极管阵列-电喷雾电离质谱法; 木香顺气丸; 甲醇提取物

Qualitative Analysis of the Chemical Composition of Methanol Extracts from Muxiang Shunqi Pills by HPLC-DAD-ESI-MS

WANG Jia-lin¹, WANG Si-tan²(1. Luoyang Institute for Food and Drug Control, Henan Luoyang 471023, China; 2. Wuxi Real Industrial Co., Ltd., Jiangsu Wuxi 214092, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the qualitative analysis of chemical compositions of methanol extracts from Muxiang shunqi pills. METHODS: HPLC-DAD-ESI-MS was conducted. The column was Eclipse XDB C₁₈ with binary linear gradient elution and the column temperature of 35℃, ion source of ESI and respective scanning of positive and negative ions. RESULTS: With the combination of DAD, ESI and MS, molecular ion peak [M+H]⁻ and molecular plus sodium peak [M+Na]⁺ of 8 compounds were obtained. Collision-induced dissociation (CID) technology was used to collect the MS² information and 8 compounds were obtained with the combination of retention time and reference papers. We got flavonoid glycosides (naringin, isonaringin, hesperidin, neohesperidin and liquiritin), lignans (maganolol, honokiol) and alkaloid (synephrine). CONCLUSIONS: The method can be used to analyse the active components of Muxiang shunqi pills.

KEYWORDS HPLC-DAD-ESI-MS; Muxiang shunqi pills; Methanol extracts

木香顺气丸由木香、陈皮、枳壳、青皮、槟榔、香附、厚朴、甘草等10味中药组成, 具有行气化湿、健脾和胃的功效, 主要用于治疗湿浊、阻滞气机、胸膈痞闷、脘腹胀痛、呕吐恶心、暖气纳呆。木香顺气丸中主要的成分为木香中挥发性的倍半萜和倍半萜内酯成分, 陈皮、青皮和枳壳中的二氢黄酮类成分,

以及厚朴中的木脂素类成分。关于测定木香顺气丸中成分的高效液相色谱(HPLC)法已有报道^[1-4], 2010年版《中国药典》中木香顺气丸项下对厚朴酚和与厚朴酚进行了含量测定。作者前期已对木香顺气丸甲醇提取物指纹图谱进行了研究^[5], 色谱指纹图谱通过色谱峰相对保留时间对复杂基质组分进行

- (11):885.
- [2] 师永清, 康淑荷, 王爱军. HPLC法同时测定黄连双清丸中栀子苷、芍药苷、黄芩苷、盐酸小檗碱和大黄素的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(9): 1612.
- [3] 李文霞, 宋平顺. HPLC法同时测定三黄片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J]. 药学进展, 2011, 35(4): 178.
- [4] 周国莉, 林晓莲, 程聪. HPLC法测定复方黄连液中盐酸小檗碱的含量[J]. 中医药导报, 2010, 16(8): 80.
- [5] 李茂林. 复方黄连素片中盐酸小檗碱含量测定方法改进[J]. 中国药业, 2013, 22(14): 68.
- [6] 唐丽琴, 刘圣, 李鑫, 等. HPLC测定复方黄连胶囊中盐酸小檗碱的含量[J]. 中成药, 2003, 25(9): 765.
- [7] 朱琴, 黄湘杰. HPLC法同时测定三黄散中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药师, 2014, 17(8): 1432.
- [8] 金杏芳. 高效液相色谱法测定复方黄连胶囊中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药业, 2012, 21(11): 21.
- [9] 周静安. RP-HPLC法同时测定炎可宁糖衣片中盐酸小檗碱和黄芩苷的含量[J]. 中医药学刊, 2005, 23(10): 155.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 282.

* 主管药师。研究方向: 天然药物活性成分分析。电话: 0379-63936617。E-mail: latova@163.com

(收稿日期: 2015-01-27 修回日期: 2015-03-27)
(编辑: 申琳琳)