

HPLC法测定利尔眠胶囊中3种成分的含量

王雷*, 于荣(山西省心血管病医院药学部, 太原 030024)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0062-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.16

摘要 目的:建立同时测定利尔眠胶囊中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈,流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(23:77, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为345 nm(0~20 min,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀)和290 nm(>20~30 min,桂皮醛),柱温为30℃,进样量为10 μL。结果:盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛进样量检测线性范围分别为0.036 80~0.736 0、0.016 76~0.335 2、0.004 140~0.082 80 μg($r \geq 0.999 5$);检测限分别为0.110 4、0.050 3、0.124 2 ng,定量限分别为0.368 0、0.167 6、0.414 0 ng;精密性、稳定性(12 h)、重复性试验的RSD均<2.0%($n=6$);加样回收率为96.16%~99.73%,RSD为0.99%~1.21%($n=6$)。结论:建立的方法操作简单、重复性好,适用于同时测定利尔眠胶囊中盐酸小檗碱等3种成分的含量。

关键词 利尔眠胶囊;高效液相色谱法;盐酸小檗碱;盐酸巴马汀;桂皮醛;含量测定

Content Determination of 3 Components in Li'ermian Capsule by HPLC

WANG Lei, YU Rong (Dept. of Pharmacy, Shanxi Cardiovascular Hospital, Taiyuan 030024, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 3 components in Li'ermian capsule, including berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and cinnamaldehyde. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Zorbax SB-C₁₈ with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (23:77, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were set at 345 nm (0-20 min, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride) and 290 nm (>20-30 min, cinnamaldehyde), and column temperature was 30℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and cinnamaldehyde were 0.036 80-0.736 0, 0.016 76-0.335 2, 0.004 140-0.082 80 μg ($r \geq 0.999 5$). The limits of detection were 0.110 4, 0.050 3, 0.124 2 ng, and the limits of quantitation were 0.368 0, 0.167 6, 0.414 0 ng, respectively. RSDs of precision, stability (12 h) and reproducibility tests were all lower than 2.0% ($n=6$). The recoveries were 96.16%~99.73% (RSD=0.99%~1.21%, $n=6$). CONCLUSIONS: Established method is simple, reproducible and suitable for simultaneous determination of 3 components such as berberine hydrochloride in Li'ermian capsule.

KEYWORDS Li'ermian capsule; HPLC; Berberine hydrochloride; Palmatine hydrochloride; Cinnamaldehyde; Content determination

利尔眠胶囊是由黄连、肉桂两味药材组成的中药复方制剂,具有清心降火、交通心肾的作用,用于心肾不交所致的失眠多梦、心悸不宁^[1-2]等症。其中黄连的主要成分为盐酸小檗碱和盐酸巴马汀,这两种成分具有抗菌、抗炎、抗焦虑、抗抑郁、治疗心血管系统疾病等多种药理作用^[3-4];肉桂的主要成分为桂皮醛,该成分具有镇静、抗炎、解热镇痛、改善心血管疾病、抗菌等药理作用^[5]。利尔眠胶囊载于《国家中成药标准汇编·内科·心系分

册》,标准编号为WS-10171(ZD-0171)-2002^[6],其含量测定采用薄层扫描法测定盐酸小檗碱的含量,方法专属性不强,结果准确性差,且样品处理时间过长,步骤烦琐。目前,有关利尔眠胶囊的质量控制研究亦未见相关文献报道。因此,笔者参考相关文献^[7-13],采用高效液相色谱法(HPLC)建立了同时测定利尔眠胶囊黄连中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀,肉桂中桂皮醛含量的方法,以期完善该制剂的质量控制方法提供参考。

[16] WARREN GL, ANDREWS CW, CAPELLI AM, et al. A critical assessment of docking programs and scoring functions[J]. *J Med Chem*, 2006, 49(20):5912-5931.

[17] TAKADA I, YU RT, XU HE, et al. Alteration of a single amino acid in peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR alpha) generates a PPAR delta phenotype

[J]. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(5):733-740.

[18] YANAGISAWA H, TAKAMURA M, YAMADA E, et al. Novel oximes having 5-benzyl-2, 4-thiazolidinedione as antihyperglycemic agents: synthesis and structure-activity relationship[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(4):373-375.

*主管药师,硕士。研究方向:医院药学、药物临床试验。电话:0351-5661206。E-mail:wangleitaiyuan@hotmail.com

(收稿日期:2017-04-24 修回日期:2017-06-13)

(编辑:刘萍)

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,包括四元泵、紫外可变波长检测器、自动进样器、ChemStation化学工作站(美国Agilent公司);Mettler AE240型十万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ3200DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

利尔眠胶囊(成都九芝堂金鼎药业有限公司,批号:160412、160921、170327,规格:0.35 g/粒);盐酸小檗碱对照品(批号:110713-201212)、盐酸巴马汀对照品(批号:110732-201611)、桂皮醛对照品(批号:710-200011)均购自中国食品药品检定研究院,纯度均>86%;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(23:77, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:345 nm(0~20 min,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀)、290 nm(>20~30 min,桂皮醛);柱温:30℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛对照品58.95、24.14、10.35 mg,加甲醇分别制成每1 mL含盐酸小檗碱2.044 0 mg、盐酸巴马汀0.838 1 mg、桂皮醛0.414 0 mg的单一对照品贮备液;再分别精密量取盐酸小檗碱对照品贮备液0.9 mL、盐酸巴马汀对照品贮备液1.0 mL、桂皮醛对照品贮备液0.5 mL,置于同一50 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品内容物适量,研细,取约100 mg,精密称定,置于200 mL量瓶中,加甲醇定容,称定质量,超声(功率:150 W,频率:40 kHz,下同)处理30 min,放冷至室温,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤,即得。

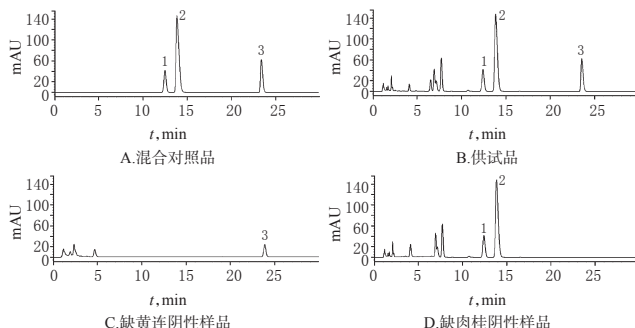
2.2.3 阴性样品溶液 按样品处方比例和制备工艺分别配制缺黄连、缺肉桂的阴性样品,再按“2.2.2”项下制备方法制成阴性样品溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果,在该色谱条件下,各待测成分间、待测成分与杂质峰间均能达到基线分离,分离度均>1.5,其他成分对测定无干扰,理论板数以盐酸小檗碱峰计不低于3 000,详见图1。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液1、2、5、10、15、20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量为横坐标(x, μg)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮



1. 盐酸巴马汀;2. 盐酸小檗碱;3. 桂皮醛

1. palmatine hydrochloride; 2. berberine hydrochloride; 3. cinnamaldehyde

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

醛的回归方程分别为 $y=4\ 559x-15.05$ ($r=0.999\ 6$)、 $y=2\ 836x+7.529$ ($r=0.999\ 8$)、 $y=17\ 173x+28.62$ ($r=0.999\ 5$)。结果表明,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛进样量检测线性范围分别为0.036 80~0.736 0、0.016 76~0.335 2、0.004 140~0.082 80 μg。

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限。结果,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛的检测限分别为0.110 4、0.050 3、0.124 2 ng,定量限分别为0.368 0、0.167 6、0.414 0 ng。

2.6 精密度的试验

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛峰面积的RSD分别为0.41%、0.37%、0.85% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:160412)适量,分别在室温下放置0、1、2、4、8、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛峰面积的RSD分别为1.48%、0.99%、1.63% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取同一批(批号:160412)样品内容物适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛含量的平均值分别为68.85、32.13、7.57 mg/g, RSD分别为0.85%、1.89%、1.35% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:160412)适量,共6份,每份约50 mg,分别置于200 mL量瓶中,各加入待测成分对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,

再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)
Tab 1 Results of recovery tests($n=6$)

待测成分	取样量, mg	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
盐酸小檗碱	53.10	3.656 0	4.089 0	7.681 0	98.43	97.31	0.99
	54.60	3.759 0	4.089 0	7.691 0	96.16		
	53.00	3.649 0	4.089 0	7.653 0	97.92		
	53.70	3.697 0	4.089 0	7.652 0	96.72		
	52.80	3.635 0	4.089 0	7.580 0	96.48		
	53.50	3.683 0	4.089 0	7.695 0	98.12		
盐酸巴马汀	53.10	1.706 0	1.676 0	3.361 0	98.75	98.52	1.06
	54.60	1.754 0	1.676 0	3.399 0	98.15		
	53.00	1.703 0	1.676 0	3.322 0	96.60		
	53.70	1.725 0	1.676 0	3.387 0	99.16		
	52.80	1.696 0	1.676 0	3.364 0	99.52		
	53.50	1.719 0	1.676 0	3.377 0	98.93		
桂皮醛	53.10	0.402 2	0.414 0	0.815 1	99.73	97.72	1.21
	54.60	0.413 5	0.414 0	0.816 2	97.27		
	53.00	0.401 4	0.414 0	0.809 6	98.60		
	53.70	0.406 7	0.414 0	0.807 8	96.88		
	52.80	0.399 9	0.414 0	0.800 9	96.86		
	53.50	0.405 2	0.414 0	0.806 7	96.98		

2.10 样品含量测定

取3批样品内容物适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$, mg/粒)

Tab 2 Results of contents determination of samples ($n=3$, mg/capsule)

样品批号	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	桂皮醛
160412	24.40	11.39	2.684
160921	25.36	12.67	3.307
170327	23.32	10.62	2.488

3 讨论

3.1 提取条件的选择

笔者参考相关文献^[4],比较了加热回流和超声两种提取方法,结果发现采用上述两种提取方法盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量相当;而采用超声提取时桂皮醛的含量较高,这可能与桂皮醛具有挥发性,长时间加热导致其损失有关。综合考虑选择超声提取为本试验的提取方法。笔者还比较了甲醇及不同比例甲醇-水作为溶剂的提取效果,结果显示甲醇为提取溶剂时,上述3种成分的提取含量最高,色谱中杂质峰最少,故确定甲醇为本试验的提取溶剂。

3.2 检测波长的选择

参考相关文献^[14-18]可知,盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的特征吸收波长为345 nm^[8-10],桂皮醛的特征吸收波长为290 nm。因此,本试验通过HPLC仪的波长切换功能,选择上述各待测成分的特征吸收波长进行含量测定。

3.3 对结果的讨论

利尔眠胶囊标准规定:本品每粒含黄连以盐酸小檗

碱计,不得少于17.5 mg。本研究3批样品中的盐酸小檗碱含量均>17.5 mg/粒,符合相关标准^[6]。

综上所述,本研究建立的方法操作简单、重复性好,适用于同时测定利尔眠胶囊中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛的含量。

参考文献

- [1] 陈晓英,彭艳梅. HPLC法测定利尔眠片中盐酸小檗碱的含量[J]. 中医药导报, 2008, 14(12): 62-64.
- [2] 高美超,张洋. 综合疗法治疗顽固性失眠41例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(17): 30-31.
- [3] 张月月,王君明,崔琰,等. 中药生物碱类成分抗焦虑或抑郁活性及黄连生物碱药理作用研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(4): 1184-1187.
- [4] 王利红,唐文照,辛义周. 黄连中生物碱成分及药理作用研究进展[J]. 山东中医药大学学报, 2015, 39(4): 389-392.
- [5] 张明发,沈雅琴. 肉桂的药理作用及温里功效[J]. 陕西中医, 1995, 16(1): 39-42.
- [6] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编: 内科: 心系分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 92-95.
- [7] 袁学刚,王战,胡慧玲,等. HPLC测定连翘砵溶液中表小檗碱、黄连碱、巴马汀和盐酸小檗碱的含量[J]. 中药与临床, 2016, 7(1): 31-33.
- [8] 涂星,唐洪梅,柴玉娜,等. 反相高效液相色谱法测定肠激安胶囊中芍药苷、盐酸小檗碱和盐酸巴马汀含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(1): 115-120.
- [9] 徐志红,陈磊,刘欣怡. 小青龙贴中桂皮醛含量测定的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(6): 576-584.
- [10] 邓六勤,钟鸣. RP-HPLC法测定黄连上清片中盐酸小檗碱、盐酸药根碱和盐酸巴马汀的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(16): 1514-1516.
- [11] 李翔,刘皈阳,马建丽,等. HPLC法测定栀子黄柏口服液中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量[J]. 中国药师, 2013, 16(8): 1180-1182.
- [12] 吴海伟,贾燕花,王晓青,等. HPLC法测定复方氯霉素醇溶液中氯霉素和水杨酸的含量[J]. 实用药物与临床, 2014, 17(7): 878-881.
- [13] 胡安青. HPLC法测定金鸡片中盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药师, 2012, 15(11): 1590-1592.
- [14] 郗洋,张熙洁,刘晓红. HPLC法同时测定连翘败毒丸中5种成分的含量[J]. 中国药房, 2016, 27(6): 815-818.
- [15] 刘会,彭艳梅,吴艳,等. HPLC法测定芍桂散寒颗粒中桂皮醛的含量[J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(12): 157-158.
- [16] 贾晓斌,王丽静,陈彦,等. HPLC测定肉桂、木香中桂皮醛、木香桉内酯和去氢木香内酯[J]. 中成药, 2010, 32(2): 459-462.
- [17] 刘宏明,张叶,聂磊. HPLC法同时测定小儿柴桂退热颗粒中葛根素、大豆苷、黄芩苷、大豆苷元、桂皮醛、黄芩素的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(6): 1038-1042.
- [18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 136, 303.

(收稿日期: 2017-06-14 修回日期: 2017-08-14)

(编辑: 刘柳)