

HPLC测定不同产地功劳木中盐酸巴马亭及盐酸小檗碱的含量

黄捷, 桑彤, 覃红萍*

(广西药品检验所, 广西南宁 530021)

摘要: 目的 建立测定功劳木中盐酸巴马亭及盐酸小檗碱的含量的方法。方法 HPLC法, 采用 Intersil ODS-3 C₁₈柱, 乙腈-水-十二烷基磺酸钠 (470: 530: 1 g) 为流动相, 检测波长为 265 nm, 柱温 40℃, 流速为 1.0 mL/min。结果 盐酸巴马亭在 4.368~52.416 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 98.97%; 盐酸小檗碱在 4.532~54.384 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 98.98%。结论 该法简便、快速、重现性好, 适用于功劳木中盐酸巴马亭及盐酸小檗碱的定量分析。

关键词: 功劳木; 盐酸巴马亭; 盐酸小檗碱; HPLC法

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)06-0503-02

Determination of palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride in Chinese Mahonia Stem from different habitats by HPLC

HUANG Je, SANG Tong, QIN Hong-ping

(Guangxi Institute for Drug Control, Nanning Guangxi 530021, China)

Abstract Object To develop a method for the determination of palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride in *Chinese Mahonia Stem* from different habitats. **Methods** HPLC method was set up, using Intersil ODS-3 C₁₈ column, the mobile phase was acetone-trile-water-sodium laurylsulfonate (470: 530: 1 g), the UV detection wavelength was 265 nm, with a flow rate of 1.0 mL/min at 40℃. **Results** A good linearity was obtained in the range of 4.368-52.416 μg/mL ($r=0.9999$) for palmatine hydrochloride and 4.532-54.384 μg/mL ($r=0.9999$) for berberine hydrochloride. The average recovery of palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride was 98.97% and 98.98%, respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid and with better reproducibility for the determination of palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride in *Chinese Mahonia Stem*.

Key words *Chinese Mahonia Stem*; palmatine hydrochloride; berberine hydrochloride; HPLC

功劳木是小檗科植物阔叶十大功劳 *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. 或细叶十大功劳 *M. fortunei* (Lindl.) Frdde 的干燥茎。功劳木中小檗碱原型生物碱为盐酸巴马亭、盐酸小檗碱以及药根碱^[1]。《中华人民共和国药典》2000年版一部中其含量检测方法是采用紫外分光光度法, 以盐酸小檗碱计总生物碱的含量。本研究采用 RP-HPLC 法对不同产地功劳木中盐酸巴马亭及盐酸小檗碱的含量进行测定, 方法简便、快速、重现性好, 能较好地控制其质量。

1 仪器与试药

美国 Tsp 公司 P4000 泵, UV 6000LP 二极管阵列检测器, AS1000 自动进样器, SN 4000 系统控制器

盐酸巴马亭及盐酸小檗碱对照品由中国药品生物制品检定所提供, 盐酸巴马亭纯度为 99.37% (批号: 0732-9604), 盐酸小檗碱纯度为 99.31% (批号:

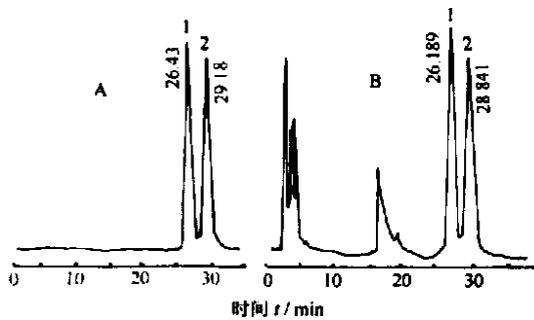
713-9906)。功劳木药材 12 份, 经本所韦家福主管药师鉴定。乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 十二烷基磺酸钠为分析纯, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Inertsil ODS-3 柱 (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相: 乙腈-水-十二烷基磺酸钠 (470: 530: 1 g); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 265 nm; 柱温: 40℃; 外标峰面积法定量。对照品及样品色谱图见图 1

2.2 供试品溶液及对照品溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备: 取本品粉末 (过三号筛) 约 0.25 g, 置 50 mL 量瓶中, 精密称定, 加入盐酸-甲醇 (1: 100) 混合溶液 48 mL, 于 55℃ 水浴中加热 15 min, 取出, 放冷, 超声提取 45 min, 放至室温, 加盐酸-甲醇 (1: 100) 溶液至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 5 mL, 蒸干, 残渣用乙腈-水



A对照品 B样品 1-盐酸巴马亭 2-盐酸小檗碱

图 1 功劳木 HPLC图

(1: 1)溶解,转移至 5 mL量瓶中并稀释至刻度,摇匀,滤过,取滤液,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取盐酸巴马亭、盐酸小檗碱对照品适量,分别加乙腈-水(1:1)制成 15 μg/mL的对照品溶液。

2.3 线性关系的考察:分别精密称取盐酸巴马亭、盐酸小檗碱对照品约 12 mg,置于 25 mL量瓶中,加乙腈-水(1:1)溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。分别精密吸取以上 2种对照品溶液各 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 mL置 10 mL量瓶中,加乙腈-水(1:1)稀释至刻度,摇匀,进样测定。以峰面积积分为坐标,对照品浓度为坐标绘制标准曲线,盐酸巴马亭回归方程为: $Y = 4.3485 \times 10^6 X - 2.6011$, $r = 0.9999$,线性范围为 4.368~52.416 μg/mL。盐酸小檗碱回归方程为: $Y = 4.0955 \times 10^6 X - 1.7098$, $r = 0.9999$,线性范围为 4.532~54.384 μg/mL。

2.4 精密度试验:对同一供试品溶液,连续进样 5次,结果盐酸巴马亭及盐酸小檗碱含量的 RSD分别为 0.34%, 0.30% ($n = 5$)。

2.5 重复性试验:测定同批样品 5份,结果盐酸巴马亭及盐酸小檗碱含量的 RSD分别为 0.78%, 1.79% ($n = 5$)。

2.6 稳定性试验:对同一供试品溶液,每隔 2 h测定 1次,共测定 7次,结果盐酸巴马亭含量 RSD= 0.43% ($n = 7$),盐酸小檗碱含量的 RSD= 0.25% ($n = 7$),表明在 12 h内基本稳定。

2.7 加样回收率试验:精密称取已知含量的功劳木药材适量,分别精密加入一定量的盐酸巴马亭及盐酸小檗碱对照品,结果盐酸巴马亭的平均回收率为 99.97%, RSD= 0.83% ($n = 5$);盐酸小檗碱的平均

回收率为 98.98%, RSD= 1.63% ($n = 5$)。

2.8 样品测定:分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,进样,测定并计算,测定了 12批样品,结果盐酸巴马亭含量在 0.262%~1.027%,盐酸小檗碱含量在 0.145%~1.805%,总量在 0.610%~2.530% (见表 1)。

表 1 样品测定结果(% , $n = 2$)

编号	药材来源	巴马亭含量	小檗碱含量	总量
1	广西贺县	0.539	0.286	0.825
2	浙江金华	0.748	0.286	0.925
3	广西南宁	0.318	0.177	0.610
4	广西岑溪	1.027	0.293	1.388
5	广西桂平	0.529	0.361	1.102
6	广西邕宁	0.725	1.805	2.530
7	广西百色	0.262	0.554	0.816
8	广西上思	0.332	0.305	0.637
9	广西桂林	0.561	0.509	1.070
10	广西柳江	0.488	0.329	0.816
11	广西平乐	0.541	0.145	0.686
12	广西梧州	0.642	0.473	1.115

3 讨论

3.1 本研究建立了功劳木中 2种主要生物碱的 HPLC含量测定方法,因其主要成分盐酸巴马亭及盐酸小檗碱结构相似,在一般的液相色谱仪中难以达到基线分离,经参考有关文献^[2],加入离子对试剂十二烷基磺酸钠,以离子对色谱进行分离,从而达到较好的分离效果。以盐酸巴马亭峰计,在塔板数为 4000时,盐酸巴马亭及盐酸小檗碱两峰的分离度为 1.6。用二极管阵列检测器对样品峰进行检测,无杂质干扰。

3.2 提取条件的条件:在提取方法上对加热回流及超声提取进行了筛选,加热回流采用水浴中回流 30, 60 min的方法,超声提取采用 55℃水浴中加热后再超声处理 15, 30, 45, 60 min的方法,结果显示 55℃水浴中加热 15 min后再超声处理 45 min提取效率最佳。

3.3 本研究测定了 12批次样品,由于产地和采收时间不同,盐酸巴马亭和盐酸小檗碱含量差异较大,尤其是盐酸小檗碱。但其总量在 0.610%~2.253%,差异相对较小。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第三册)[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 原田正敏. 常用生药の成分定量[M]. 东京:广川书店, 1989.