

高效毛细管电泳法测定黄连中盐酸小檗碱的含量

刘玉红¹, 刘玉国² (1. 山东中医药大学药学院药物化学系, 济南 250014; 2. 山东省肿瘤医院药剂科, 济南 250117)

摘要:目的 建立高效毛细管电泳法 (HPCE) 测定黄连中盐酸小檗碱的含量。方法 熔融石英毛细管柱 50 cm × 75 μm, 缓冲液为 0.05 mol·L⁻¹ 四硼酸钠溶液 (pH = 7.0) - 甲醇 (85:15), 分离电压 14 kV, 毛细管柱温 20℃, UV 检测波长 254 nm。结果 盐酸小檗碱进样浓度在 0.026 ~ 0.414 mg·mL⁻¹ 内线性关系良好 ($r=0.9994$), 平均加样回收率为 98.90% (RSD = 2.64%, $n=5$)。结论 本法灵敏、快速、准确, 可用于黄连的质量控制。

关键词: 高效毛细管电泳法 (HPCE); 黄连; 盐酸小檗碱

中图分类号: R917.780.5 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)02-0140-02

HPCE Determination of Berberine Content in *Coptidis Rhizoma*

LIU Yu-hong¹, LIU Yu-guo² (1. School of Pharmaceutical Science, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250012, China; 2. Department of Pharmacy, Shandong Tumor Hospital, Jinan 250117, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish method for determination of berberine content in *Coptidis Rhizoma* by HPCE. **METHODS**

The capillary electrophoretic conditions were fused-silica capillary column (50 cm × 75 μm), running buffer of 0.05 mol·L⁻¹ sodium borate solution (pH = 7.0) - methanol (85:15), separation voltage of 14kV, column temperature of 20℃ and detection wave length at 254 nm. **RESULTS** The standard curve was linear over the range of 0.026 ~ 0.414 mg·mL⁻¹ with the correlation coefficient 0.9994. The average recovery was 98.90% with RSD = 2.64% ($n=5$). **CONCLUSION** The HPCE method is sensitive, rapid and accurate. It can be used to control the quality of *Coptidis Rhizoma*.

KEY WORDS: HPCE; *Coptidis Rhizoma*; berberine

黄连 (*Coptidis Rhizoma*) 为毛茛科植物黄连 (*Coptis chinensis* Franch.)、三角叶黄连 (*Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao) 或云连 (*Coptis tectoides* C. Y. Cheng) 的干燥根茎, 为重要的传统中药。味苦, 性寒, 归心、胃、肝、胆、大肠经。功效清热燥湿、清热泻火、泻火解毒。盐酸小檗碱为黄连中的主要活性成分, 论文报道多以薄层扫描或 HPLC 法测定黄连药材及复方中盐酸小檗碱的含量, 本实验采用 HPCE 对黄连中的盐酸小檗碱进行测定。

1 仪器与试剂

P/ACE5500 型高效毛细管电泳仪 (美国 Beckman 公司), VI.21 化学工作站。黄连药材购自济南建联中药有限公司, 经本院生药室徐凌川副教授鉴定为毛茛科植物黄连 (*Coptis chinensis* Franch.) 的干燥根茎。盐酸小檗碱对照品购于中国药品生物制品检定所。甲醇、醋酸、四硼酸钠均为分析纯, 重蒸去离子水。

2 方法与结果

2.1 电泳条件

50 cm × 75 μm 熔融石英毛细管柱 (河北永年光导纤维厂); UV 检测波长 254 nm; 分离电压 14 kV, 恒压; 分离温度 20℃, 恒温; 进样方式为真空进样; 进样时间 1 s; 缓冲液: 0.05 mol·L⁻¹ 四硼酸钠溶液 (pH = 7.0) - 甲醇 (85:15)。此条件下黄连样品得到了很好的分离。

2.2 样品制备

黄连粉碎, 过 40 目筛, 精密称取 1.00 g 置于 50 mL 具塞三角瓶中, 加盐酸 - 甲醇 (1:100) 25 mL 于 50 ~ 60℃ 超声 30 min, 取出, 放冷, 加盐酸 - 甲醇 (1:100) 补足重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 5 mL 转入 25 mL 量瓶, 定容至刻度, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 滤液为供试品溶液。

2.3 标准曲线的绘制

精密称取对照品盐酸小檗碱 8.27 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 定容至刻度, 由母液分别稀释 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 得不同浓度的对照品溶液, 供毛细管电泳测定。以盐酸小檗碱浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程为 $y=1164388x+4905.167$, $r=0.9994$, 浓度在 0.026 ~ 0.414 mg·mL⁻¹ 内线性良好。

2.4 精密度实验

取同一样品液, 重复进样 5 次, 测得盐酸小檗碱面积值, RSD 1.17%。

2.5 重复性试验

取同一粉碎过筛的黄连样品 5 份, 各 1.00 g, 精密称定后依法提取进样, 每份测定 3 次, 取平均值, 以峰面积值计算 5 份样品的 RSD 为 2.31%。

2.6 稳定性试验

对同一供试品液, 每天进行测定, 共 5 d, 测其峰面积积分值的 RSD 为 3.01% ($n=5$), 表明供试品液在 5 d 内基本稳定。

2.7 样品测定

取黄连供试液依法测定,共 5 次,取平均值,用外标两点法计算盐酸小檗碱含量,折合成药材含量,结果为 2.31%, RSD1.96% ($n=5$)。

2.8 回收率实验

取已知盐酸小檗碱含量的黄连 5 份,各 0.25 g,精密称定,分别精密加入盐酸小檗碱对照品 4.00 mg,按样品制备项下操作并进行含量测定,将测定结果扣除样品中盐酸小檗碱含量,与加入对照品的比为加样回收率,结果为 98.90%, RSD 2.64% ($n=5$)。

3 讨论

3.1 高效毛细管电泳的作用原理是基于在电场作用下离子迁移的速度不同对组分进行分离分析,黄连中主要含盐酸小檗碱、黄连碱、甲基黄连碱、掌叶防己碱、药根碱,均为带电荷的季胺型生物碱,因此得到了很好的分离。

3.2 实验结果表明,该法不仅线性关系良好 ($r=0.9994$),回收率较高 (98.90%),而且精密度试验、稳定性试验均符合分析要求,方法准确,重复性好。为黄连药材及含黄连的复方制剂的质量控制和质量标准的制定提供了科学的依据。

收稿日期:2006-08-11