

关黄柏中盐酸小檗碱及盐酸巴马汀的测定 高效液相色谱法

一、摘要

本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪对关黄柏中盐酸小檗碱及盐酸巴马汀进行测定。对照品及供试品连续进样 7 针的峰面积的重复性完全满足 2020 年版《中国药典》的要求。

二、背景

关黄柏清热燥湿，泻火除蒸，解毒疗疮。收录于 2020 年版《中国药典》中，用于阴虚火旺，盗汗骨蒸的功效。其中含有的盐酸小檗碱及盐酸巴马汀是关黄柏主要的活性成分，在 2020 年版《中国药典》规定，可利用高效液相色谱法测定关黄柏中盐酸小檗碱及盐酸巴马汀的含量以控制药物质量。

三、实验过程

1 范围

本文根据盐酸小檗碱及盐酸巴马汀的性质，对关黄柏中盐酸小檗碱及盐酸巴马汀进行测定，并对测定方法进行方法学验证，以确保测试方法的重现性及重复性。

2 原理

2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷在 265nm 处有紫外吸收，使用高效液相色谱法进行检测，外标法定量。

3 试剂与材料

3.1 水：符合 GB/T6682 的一级水；

3.2 乙腈：色谱纯；

3.3 0.22 μ m 微孔尼龙滤膜；

3.4 磷酸二氢钠：优级纯

3.5 磷酸：色谱纯

4 仪器与设备

4.1 高效液相色谱仪: K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器;

4.2 分析天平: 精确到 0.0001g;

5 测定步骤

5.1 对照品溶液的制备

分别称取盐酸小檗碱及盐酸巴马汀各 5mg 用 60%乙醇溶液定容至 100mL。

5.2 样品前处理

取本品粉末约 0.2g, 精密称定, 置 50ml 量瓶中, 加入 60%乙醇 40ml, 超声处理 (功率 250W, 频率 40kHz) 45 分钟, 放冷, 加 60%乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

5.3 测定

5.3.1 色谱条件:

- a) 色谱柱: C18 4.6×250mm, 5 μ m 或者相当的色谱柱;
- b) 流动相: A: 乙腈; B: 0.1%磷酸水溶液 (加入磷酸二氢钠使其达到 0.02mol/L 的浓度)
- c) 柱温: 35 $^{\circ}$ C;
- d) 进样量:10 μ L;
- e) 流速: 1mL/min;
- f) 波长: 345nm;
- g) 梯度洗脱程序见表 1:

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A%(乙腈)	B% (0.1%磷酸溶液 (加入磷酸二氢钠使其达到 0.02mol/L 的浓度))
0	25	75
20	25	75
40	65	35
45	90	10
50	90	10
50.1	25	75
65	25	75

6 色谱图及重复性结果

6.1 按照上述色谱条件 (5.3.1) 进行采集, 对照品溶液色谱图和样品色谱图如下:

(1) 对照品溶液重复性

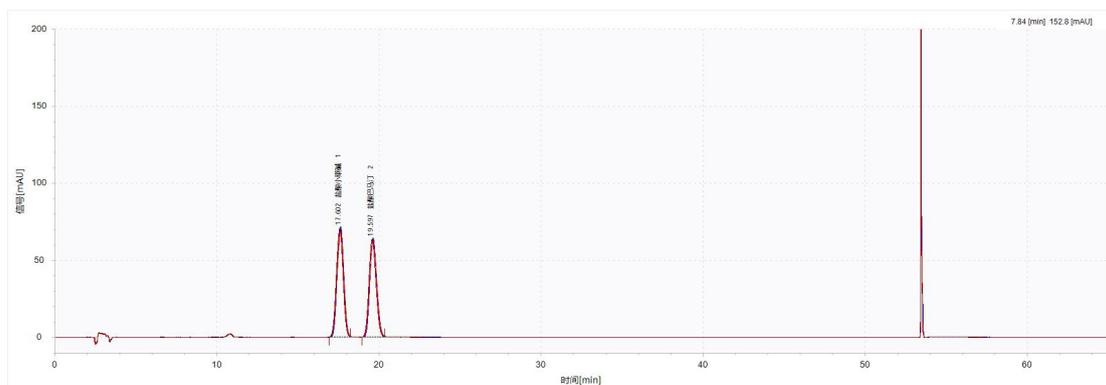


图 1 对照品溶液进样 7 针的重复性

表 2 对照品溶液进样 7 针重复性数据统计

		1	2	3	4	5	6	7 均值	SD	RSD%	最大值	最小值	极差	
保留时间	盐酸小檗碱	17.602	17.672	17.652	17.648	17.652	17.648	17.646	0.021197494	0.120	17.672	17.602	0.070	
	盐酸巴马汀	19.597	19.675	19.648	19.647	19.655	19.647	19.645	0.023540239	0.120	19.675	19.597	0.078	
峰面积	盐酸小檗碱	2030.941	2028.295	2027.249	2028.668	2026.704	2030.945	2035.445	2029.751	3.002070436	0.148	2035.445	2026.704	8.741
	盐酸巴马汀	1900.193	1898.746	1895.346	1897.592	1890.715	1900.062	1907.293	1898.564	5.066776077	0.267	1907.293	1890.715	16.578

(2) 供试品溶液重复性

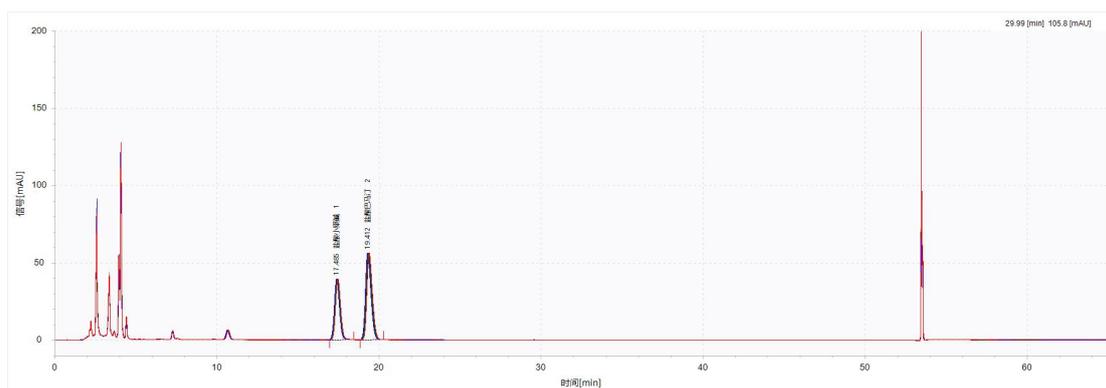


图 2 供试品溶液进样 7 针的重复性

表 3 供试品溶液进样 7 针重复性数据统计

		1	2	3	4	5	6	7 均值	SD	RSD%	最大值	最小值	极差	
保留时间	盐酸小檗碱	17.485	17.442	17.438	17.417	17.462	17.448	17.408	17.443	0.026066764	0.149	17.485	17.408	0.077
	盐酸巴马汀	19.412	19.357	19.347	19.328	19.388	19.365	19.318	19.359	0.032851759	0.170	19.412	19.318	0.094
峰面积	盐酸小檗碱	860.168	860.827	861.465	864.149	860.462	861.872	860.29	861.319	1.396196023	0.162	864.149	860.168	3.981
	盐酸巴马汀	1319.06	1320.566	1321.011	1322.167	1320.686	1322.397	1321.91	1321.114	1.162004508	0.088	1322.397	1319.060	3.337

7.结论

分离度、理论塔板数方面均可满足《中国药典 2020 年版》的要求，保留时间以及峰面积的 RSD (n=7) 均小于 0.3%，满足《中国药典 2020 年版》小于 2.0%的要求，因此，使用 wooking K2025 的高效液相色谱仪测定关黄柏中盐酸小檗碱及盐酸巴马汀有良好的重复性。