

# 高效液相色谱法测定三颗针药材中盐酸小檗碱的含量

**摘要：**三颗针为小檗科植物的干燥根，具有清热燥湿，泻火解毒之功效。其活性成分主要为盐酸小檗碱、药根碱、巴马亭等。本文应用 RIGOL L-3000 高效液相色谱系统，采用药典规定的方法测定了三颗针药材中盐酸小檗碱的含量。实验证明 L-3000 高效液相色谱系统全面满足药典方法及系统适应性的要求，分析结果准确可靠。

## 一、引言

三颗针药材为小檗科植物拟豪猪刺。小黄连刺、细叶小檗，或匙叶小檗等同属数种植物的干燥根。具有清热燥湿，泻火解毒之功效，主治湿热泻痢，黄疸，湿疹，咽痛目赤等症。其主要活性成分为盐酸小檗碱、药根碱、巴马亭等。三颗针药材是中国药典（2010 版）新增品种，对其鉴别与分析限定了严格的方法和标准。本文参照中国药典（2010 版）中规定的方法，应用 RIGOL L-3000 高效液相色谱系统分析三颗针药材中盐酸小檗碱的含量，得到了较为理想的实验结果。

## 二、实验部分

### 2.1 仪器及试剂

高效液相色谱仪：RIGOL L-3000 高效液相色谱系统（配 L-3300 自动进样器）（北京普源精仪科技有限责任公司）；

超纯水纯化系统：milli-Q（美国Millipore）；

天平：BT 124S（德国塞多利斯）；

粉碎机：天津泰斯特 FW80；

酸度计：PHSJ-4A（上海雷磁）；

移液枪：10-100  $\mu$ l，100-1,000  $\mu$ l（eppendorf）；

盐酸小檗碱对照品：中国药品生物制品检定所，纯度 > 98%（A0151）；

三颗针药材：市售；

其余试剂均为市售 HPLC 级或分析纯。

### 2.2 色谱条件

色谱柱：Rigol: Compass，C18，5  $\mu$ m，4.6 x 250mm id，

柱温：30℃；

进样量：10  $\mu$  L；

流动相：乙睛-0.02M磷酸二氢钾溶液（24:76）

流速：1.0ml/min

检测波长：265 nm

## 2.3 试样准备

### 2.3.1 对照品溶液的制备

取盐酸小檗碱对照品 2.0mg，精密称定，甲醇为溶剂配制浓度为  $20\mu\text{g/mL}$  的溶液，备用。

### 2.3.2 标准溶液的制备

从标准储备液中吸取 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10ml 溶液到 10ml 容量瓶, 用甲醇稀释到刻度, 备用。

### 2.3.3 样品溶液的制备

取三颗针药材, 在粉碎机中粉碎, 过 4 号筛, 取细粉约 0.1 g，精密称定，置 50ml 容量瓶 中，用甲醇稀释到刻度，超声(功率 300W, 频率 40kHz)震荡提取 1h 后，放冷，用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液备用。

## 2.4 实验方法

### 2.4.1 绘制标准工作曲线

取各浓度的标准溶液，在选定的色谱条件下分别进样，进样量  $10\mu\text{L}$ ，分别测得各浓度标准溶液的峰面积，以峰面积(Y)为纵坐标，盐酸小檗碱浓度(X)为横坐标, 以浓度  $X(\mu\text{g/mL})$  对峰面积 Y 进行线性回归分析, 绘制标准工作曲线。

### 2.4.2 样品含量测试

在选定色谱条件下，将样品溶液进样  $1010\mu\text{L}$ ，测定峰面积。

## 三、结果及讨论

### 3.1 线性范围

以盐酸小檗碱标准溶液所做的标准工作曲线如下：

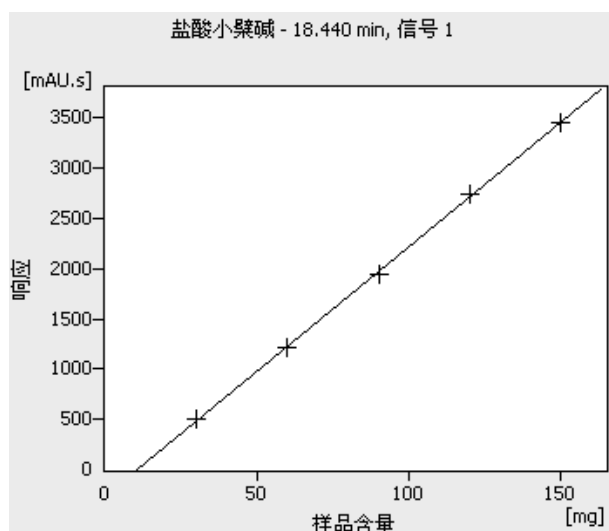


图 1 盐酸小檗碱标准曲线图

线性方程:  $Y=24.76X-256.6$ ，其中相关因子为 0.9999，说明该标准工作曲线具有良好线性范围，能够充分满足样品分析的要求。

### 3.2 样品测试

取三颗针样品溶液，按上述色谱条件及实验方法进行高效液相色谱测定，以外标法准确计算

含量，得到如下结果：

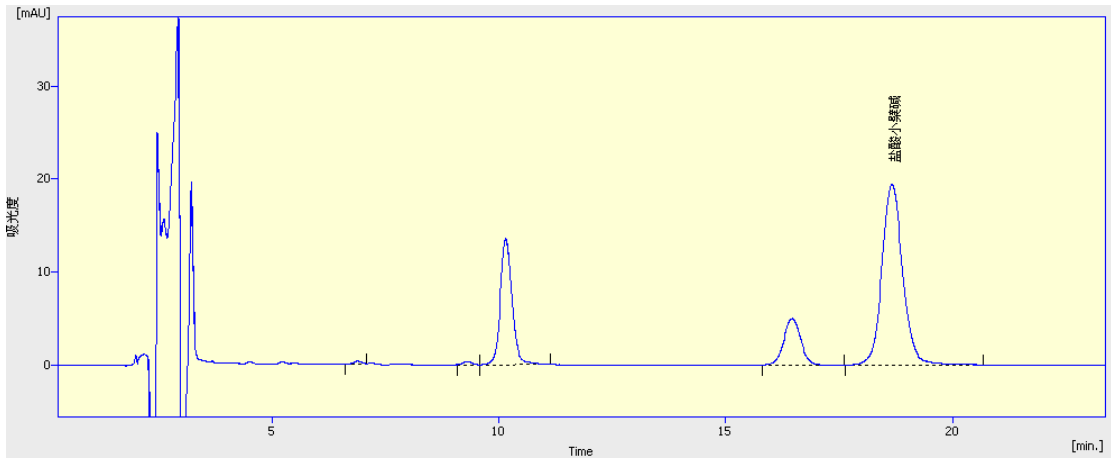


图 2 三颗针样品实测 HPLC 色谱图

表 1 三颗针样品实测结果

样品来源	试样浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	盐酸小檗碱含量
市售 购于 2010 年 2 月	10	0.68% (药典规定不得少于 0.60%)

四、结论

- 1.本方法中，样品溶液中的盐酸小檗碱与杂质得到了良好的分离，实验结果充分满足药典规定的方法及系统适应性要求。
- 2.本方法准确度高，重复性好，可见RIGOL L-3000高效液相色谱系统完全能够达到中国药典（2010版）当中对三颗针药材中盐酸小檗碱含量的测试要求。
- 3.结果显示，所购三颗针药材样品中盐酸小檗碱含量0.68%，满足药典要求的不低于0.60%的含量。