

三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定

刘善新*, 靳光乾, 王亮

(山东省中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] 目的: 建立三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法。Lichrospher C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (46:64) (每 100 mL 含 0.1 g 十二烷基硫酸钠), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 350 nm。结果: 盐酸小檗碱的进样量在 0.042 0 ~ 0.525 μg 线性关系良好, $r = 0.999 8$, 平均回收率为 95.24%, RSD 1.33%。3 批三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量分别为 0.326%, 0.347%, 0.373%。结论: 方法准确、灵敏、重复性好, 可作为三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定方法。

[关键词] 三黄汤制炉甘石; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0107-03

[doi] 10.11653/syfy20131300107

Content Determination of Berberine Hydrochloride in Prossing Calamina by Sanhuang Tang

LIU Shan-xin*, JIN Guang-qian, WANG Liang

(Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the content determination of berberine hydrochloride in prossing Calamina by Sanhuang Tang. **Method:** HPLC was used with Lichrospher C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), acetonitrile-0.1% phosphoric acid (46:64) with mobile phase. The flow rate was 1 mL·min⁻¹; the column temperature was maintained at 30 °C; the detection wavelength was set at 350 nm. **Result:** Berberine

[收稿日期] 20120906(012)

[基金项目] 2012 年版《山东省中药炮制规范》研究项目

[通讯作者] *刘善新, 硕士, 副研究员, 从事中药新制剂、新剂型研究, Tel: 0531-82949812, E-mail: liushanxin66@163.com

- [7] 朗素梅, 朱丹妮, 余伯阳, 等. 中药鬼箭羽降糖有效部位的药效学和化学研究[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(2): 128.
- [8] 王静, 卞茸文. 鬼箭羽水提液对胰淀粉酶诱导下人脂肪细胞糖摄取的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(1): 64.
- [9] 陈志远, 王兴. 中药鬼箭羽降血糖研究进展[J]. 成都医学院学报, 2012, 7(3): 172.
- [10] Byung Y C, Chan J P, Dong G L, et al. Inhibitory effect of methanol extract of *Euonymus alatus* on matrix metalloproteinase-9 [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 85: 163.
- [11] 巴寅颖, 刘倩颖, 石任兵, 等. 中药鬼箭羽中黄酮类化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(2): 242.
- [12] 巴寅颖, 石任兵, 刘倩颖, 等. 鬼箭羽化学成分研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(7): 480.
- [13] 巴寅颖, 张兰珍, 石任兵. HPLC 法同时测定鬼箭羽药材中 4 种有效成分含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 991.
- [14] 中国药典委员会. 中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范[S]. 2004.
- [15] 张明昶, 彭小冰, 苗旭辉, 等. 中药虎杖特征指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 53.
- [16] 马鸿雁, 杨莉, 王长虹, 等. 返魂草药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 111.

[责任编辑 顾雪竹]

hydrochloride had a good linearity within 0.042 0-0.525 μg ($r=0.999\ 8$) and the average recovery was 95.24% with RSD 1.33%. The content of berberine hydrochloride in three samples of prossing Calamina by Sanhuang Tang was 0.326%, 0.347%, 0.373%. **Conclusion:** This method is simple, accurate with good reproducibility, and can be used for the content determination of berberine hydrochloride in prossing Calamina by Sanhuang Tang.

[**Key words**] prossing Calamina by Sanhuang Tang; berberine hydrochloride; HPLC; content determination

炉甘石为碳酸盐类矿物方解石族菱锌矿的矿石。具有解毒明目退翳、收湿止痒敛疮的功能,用于目赤肿痛、眼弦赤烂、翳膜遮睛、胬肉攀睛、溃疡不敛、脓水淋漓,湿疮瘙痒^[1]。三黄汤制炉甘石为煅炉甘石以黄连、黄柏、黄芩炮制加工而成^[2],其目的是为增强煅炉甘石的清热、解毒、燥湿之效^[3]。现有的文献^[2,4-6]缺乏对炮制品中辅料的鉴别及含量测定等质量控制方法,所用辅料黄连中主要含有盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱和表小檗碱等生物碱^[7]。黄柏中含有生物碱,其主要组成为小檗碱、巴马汀、药根碱、木兰花碱等生物碱类成分^[8]。为建立三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定方法,参考有关报道^[1,9-10],对炮制品中盐酸小檗碱的含量测定方法进行了研究。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(G1315B DAD 检测器, ChemStation 数据处理器 Rev. B. 01.03 [204]), Lichrospher C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) (江苏汉邦科技有限公司); 超纯水(Millipore 公司纯水器), 甲醇为色谱纯(天津康科德); 盐酸小檗碱对照品(批号 110713-200208) 购于中国药品生物制品检定所。

三黄汤制炉甘石为本课题组自制, 批号 20110411, 20110412, 20110413。

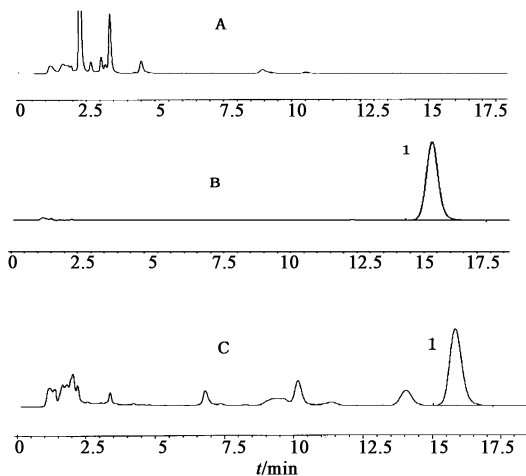
2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱选用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 乙腈-0.1% 磷酸溶液(46:64) (每 100 mL 含 0.1 g 十二烷基硫酸钠) 为流动相, 检测波长 350 nm, 理论板数以盐酸小檗碱峰计为 5 882。柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 mL · min⁻¹。按此色谱条件进行试验, 色谱峰分离好, 见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱对照品 5.25 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL, 加甲醇定容至 10 mL, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末 0.15 g, 精



A. 空白; B. 对照; C. 供试品; 1. 盐酸小檗碱

图 1 三黄汤制炉甘石 HPLC

密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇(1:100) 25 mL, 称重, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用盐酸-甲醇(1:100) 补足减失的质量, 摇匀, 离心, 以 0.45 μm 滤膜滤过, 即得。

2.2.3 缺黄连、黄柏空白溶液的制备 模拟三黄汤制炉甘石的制备方法, 取黄芩药材制备缺黄连、黄柏空白样品, 再模拟供试液的制备方法, 制得缺黄连、黄柏空白溶液。

2.3 线性关系的考察 分别精密吸取上述盐酸小檗碱对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20, 25 μL , 注入液相色谱仪, 分别测定峰面积积分值。以对照品的进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 3\ 738.82 X + 9.461\ 0$ ($r = 0.999\ 8$), 表明盐酸小檗碱在 0.042 0 ~ 0.525 μg 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.4 空白干扰试验 精密吸取供试品溶液、对照品溶液、缺黄连、黄柏空白溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 按上述方法测定, 结果空白无干扰。见图 1。

2.5 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 按上述测定方法进行测定, 测定峰面积积分值, RSD 0.398%。

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL , 注

入液相色谱仪,于0,2,4,8,12,24 h 进样测定1次,共进样测定6次,其峰面积积分值在测定时间24 h 内基本不变,RSD 0.290%。

2.7 重复性试验 取本品(批号20110413),按照供试品溶液的制备方法,平行制备6份样品,按上述方法和条件进行测定,计算每份的含量,RSD 0.554%。表明测定方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已测知含量的样品(批号20110413)约0.075 g,精密称定,共取6份,置锥形瓶中,精密加入盐酸小檗碱对照品0.277 mg,按上述方法进行提取、测定,计算回收率,结果见表1。

表1 盐酸小檗碱加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品中 的量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.075 02	0.279 8	0.544 2	95.45		
2	0.074 99	0.279 7	0.538 5	93.43		
3	0.075 01	0.279 8	0.548 4	96.97	95.24	1.33
4	0.075 13	0.280 2	0.546 7	96.21		
5	0.074 98	0.279 7	0.541 2	94.40		
6	0.075 03	0.279 9	0.543 0	94.98		

注:对照品加入量均为0.277 mg。

2.9 样品测定 按上述测定方法和条件,对3批样品进行了测定,结果含量分别为0.326%,0.347%,0.373%。

3 讨论

采用HPLC测定三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量,方法简便、灵敏、重复性良好,可作为三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定方法。试验中对供试品溶液的提取方法加热回流与超声提取进行了比较,结果二者测定含量相近,因此选择了较为简便的超声提取。

炮制辅料黄芩具有清热燥湿,泻火解毒的作用,主含黄酮类成分,主要有黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、

汉黄芩苷等,黄芩苷具有抗菌、抗病毒、抗炎等多种药理活性^[11],试验中曾拟测定三黄汤制炉甘石中黄芩苷的含量,结果炮制品中黄芩苷未检出。以黄连、黄芩、黄柏3味药材按三黄汤制炉甘石的处方比例及方法合并共煎,浓缩,干燥后,干膏粉采用HPLC检测出黄芩苷;其合并煎液浓缩后,加入煅炉甘石细粉,烘干,采用HPLC黄芩苷未检测出,原因尚待研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:211,285.
- [2] 卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:108.
- [3] 吕文海. 中药炮制学[M]. 北京:科学出版社,1992:304.
- [4] 山东省药品监督管理局. 山东省中药炮制规范[M]. 济南:山东友谊出版社,2002:536.
- [5] 马兴民. 新编中药炮制法[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1988:830.
- [6] 张镜潮,何镜华,蓝水中. 实用中药炮制[M]. 广州:广东科技出版社,1993:360.
- [7] 余园媛,王伯初,彭亮,等. 黄连的药理研究进展[J]. 重庆大学学报,2006,29(2):107.
- [8] 王浴生,邓文龙,薛春生. 中药药理与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,1998:1024.
- [9] 叶秀金,宋粉云. HPLC测定清肺抑火丸中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):90.
- [10] 张红梅,王长虹,王峥涛. 黄连标准提取物的制备与质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):56.
- [11] 聂爱国. 黄芩的研究进展[J]. 内蒙古中医药 2010(12):119.

[责任编辑 顾雪竹]