

2.4 标准曲线的制备:精密称取青蒿素对照品 24.12 mg 置 25 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,作为贮备液。精密吸取一定量贮备液,配制质量浓度为 0.589 3、0.964 8、1.178 7、2.357 4、5.893 5 mg/mL 青蒿素对照品溶液,分别进样 5 μ L,进行 HPLC-ELSD 分析。以峰面积(Y)的常用对数为纵坐标,以对照品质量浓度(X)的常用对数为横坐标,绘制标准曲线。得其回归方程为:lgY = 1.345 31 g X + 6.223 8, r = 0.989。由此可知青蒿素在 0.589 3~5.893 5 mg/mL 与峰面积具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取同一份供试品溶液重复进样 6 次,每次进样 5 μ L,测定青蒿素峰面积,计算得其 RSD 为 0.70% (n=6)。

2.6 重现性试验:精密称取同一批黄花蒿提取物样品适量,6 份,制备供试品溶液,测定。结果青蒿素的平均质量分数为 15.30%,RSD 为 0.89%。

2.7 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液,每隔 1 h 进样测定 1 次,进样量 5 μ L,测定峰面积。结果青蒿素峰面积的 RSD 为 0.86% (n=9)。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验:精密称取含青蒿素 15.30% 的黄花蒿提取物约 0.1 g,精密加入 7.521 0 mg/mL 青蒿素对照品溶液 2 mL,制备供试品溶液,进行测定,按标准曲线法计算结果。结果平均回收率为 98.71%,RSD 为 0.42% (n=6)。

2.9 样品测定:精密称取黄花蒿提取物样品 10 批,制备供试品溶液,测定。每批样品测定 3 份,按标准曲线法计算结果,以 3 次测定结果的平均值作为测

定值,结果见表 1。

表 1 黄花蒿提取物中青蒿素的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of artemisinin in *A. annua* extract (n=3)

批号	青蒿素/%	RSD/%	批号	青蒿素/%	RSD/%
050428	15.45	0.22	050601	15.15	0.42
050509	15.14	0.56	050606	15.25	0.60
050512	15.21	0.34	050607	15.66	0.59
050518	15.84	0.59	050608	15.37	0.24
050520	15.30	0.82	050610	15.28	0.30

3 讨论

3.1 蒸发光散射检测器条件的选择:考虑到青蒿素具有热不稳定性及影响 ELSD 响应信号的基本参数为气体体积流量和漂移管温度的因素。因此,本试验通过不同气体体积流量 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0、2.2 L/min 和不同漂移管温度 40、45、50、55、60 $^{\circ}$ C 对青蒿素响应信号强度的影响进行了最佳检测条件选择。最终确定 ELSD 最佳检测条件为气体体积流量为 1 L/min,漂移管温度为 45 $^{\circ}$ C。

3.2 流动相比比例的确:在上述色谱条件下,本实验分别选择了不同流动相比比例的甲醇-水、乙腈-水及磷酸盐缓冲液、醋酸盐缓冲液、三氟醋酸进行试验。结果证明:流动相选择乙腈-水(69:31,用三氟醋酸调节 pH 至 3)时,青蒿素与杂质分离效果最好。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Huang H B, Cen J M, Feng J F. Determination of artemisinin in *Artemisia annua* L. by RP-HPLC [J]. *J Guangxi Univ* (广西大学学报), 1994, 19 (2): 194-196.
- [3] Wang W L. Determination of artemisinin in Rheumatoid Capsule by HPLC [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2003, 9 (12): 43-47.

黄连与生地不同配伍比例对黄连丸中小檗碱的影响

夏旋¹, 杨明炜^{1*}, 王文清², 方建国², 汪秋兰², 陆付耳^{1†}

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院中西医结合研究所, 湖北 武汉 430030;

2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 药学部, 湖北 武汉 430030)

黄连丸出自孙思邈《千金要方》,由黄连、生地等组成。黄连为君,生地为臣,相须为用,共奏滋阴清热之功效,主治消渴(相当于现代医学之糖尿病)。尽管

原方配伍比例为 1:1,但在临床工作发现采用大剂量的生地配伍黄连能明显增强黄连丸的降糖效应,与其他学者的报道十分类似^[1]。因此,本研究采用高

收稿日期:2006-02-16

基金项目:湖北省卫生厅 2004 年度中医药中西医结合课题(2005.1-2006.12)

作者简介:夏旋(1980—),男,湖北宜昌人,在读研究生,研究方向为中西医结合内分泌专业。

Tel: (027) 83663304 Fax: (027) 83662148 E-mail: xiakuan_2003@sina.com

* 通讯作者 杨明炜 Fax: (027) 83662220 E-mail: mwyang@tjmu.edu.cn

效液相色谱法测定了黄连与生地的不同配伍比例对黄连中的活性成分小檗碱溶出率的影响。

1 仪器和试剂

HP1100 高效色谱仪 (Agilent); HP1100 工作站; VWD 型紫外检测器; 水为去离子双蒸水, 乙腈 (色谱纯), 磷酸二氢钾、磷酸 (分析纯), 盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0713-200305); 饮片黄连与生地由同济医院药学部提供并鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Lichrosorb C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.02 mol/L 磷酸二氢钾 (用磷酸调 pH 值至 3.5)-乙腈 (65:35); 检测波长: 346 nm; 温度: 40 °C; 体积流量: 0.9 mL/min; 进样量: 10 μL。理论塔板数按盐酸小檗碱计算不少于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取五氧化二磷干燥至恒重的盐酸小檗碱适量, 用流动相溶解并制成含盐酸小檗碱 5.0 μg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称定 60 °C 干燥至恒重的黄连 300.0 g (过 12 目筛), 加 10 倍的蒸馏水, 煎煮 2 次 (第一次 2 h, 第二次 1 h), 合并煎液, 加热浓缩至 150 mL, 冷至常温, 即得黄连煎液 (含黄连 2.0 g/mL)。其他煎液 (按黄连与生地比例依次为 1:0, 0:1, 1:4, 1:8) 的制备也依上法制得 (含生药 2.0 g/mL)。精密量取上述处理的药液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取上述溶液 0.5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作供试品溶液。

2.4 标准曲线考察: 精密称取干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 5.05 mg, 置 100 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。再分别精密量取 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液 (分别记为 1~6 号溶液)。分别取各供试品溶液 10 μL 进样, 记录色谱图。以峰面积 (A) 对质量浓度 (C) 作线性回归, 得方程: $A = 61.203 C + 38.304$, $r = 0.999 95$ 。可见小檗碱在 1.262 5~40.4 μg/mL 时, 峰面积与质量浓度线性关系良好。

2.5 精密度试验: 取标准曲线考察项下的 3 号溶液 (5.05 μg/mL), 进样 10 μL, 连续进样 5 次, 记录色谱图, 计算得峰面积的 RSD 为 1.60%。

2.6 重现性试验: 选择同一批号样品 (配比为 1:1), 供试品溶液 6 份, 分别进样 10 μL, 记录峰面积。

测得盐酸小檗碱的平均质量分数为 18.97 mg/g, 计算得其 RSD 为 1.29%。

2.7 稳定性试验: 选择配比为 1:1 样品, 制备供试品溶液, 于室温 (20~25 °C) 下放置, 在不同时间 (0、1、3、6、12、24 h) 进样, 每次进样 10 μL, 测定盐酸小檗碱的峰面积, 记录色谱图。计算得峰面积的 RSD 为 2.58%。

2.8 加样回收率试验: 精密量取已知样品 (配比为 1:1, 含小檗碱 19.7 mg/mL) 1.0 mL, 分别加入盐酸小檗碱对照品溶液 (18.45 μg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 分别取供试品溶液和对照品溶液各 10 μL, 进样, 记录色谱图。按外标法计算, 得平均回收率为 100.24%, RSD 为 3.37% ($n=9$)。

2.9 样品的测定: 分别精密量取上述供试品溶液和对照品溶液 (5.0 μg/mL) 各 10 μL, 注入色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算, 即得各个样品的质量浓度, 见表 1 与图 1。

表 1 黄连以及其与生地不同配伍中小檗碱的测定 ($n=3$)

Table 1 Determination of berberine in *Rhizoma Coptidis* and its compatibility with *Radix Rehmanania* ($n=3$)

样 品	总生药量/ (g · mL ⁻¹)	黄连量/ (g · mL ⁻¹)	小檗碱/ (mg · mL ⁻¹)	黄连中小檗碱 的溶出度/%
黄连	2.0	2.00	43.96	2.198
生地	2.0			
黄连: 生地 (1:1)	2.0	1.00	18.97	1.897
(1:4)	2.0	0.40	7.62	1.905
(1:8)	2.0	0.23	5.69	2.561

3 讨论

尽管黄连丸用于治疗糖尿病已有千年历史, 其疗效已被广大中医学者所认可, 初步实验研究也表明其有降糖作用^[2]。但对黄连与生地的配伍比例至今却无统一认识, 大多凭各自经验而定, 笔者与其他学者均在临床工作中发现采用大剂量的生地配伍黄连能明显增强黄连丸的降糖效应, 但与《千金要方》所述黄连丸由黄连、生地各等份组成明显不符, 印证了“中医不传之秘在于剂量”之说, 因此, 十分有必要采用现代实验研究的方法对其进行科学论证。

大量临床与实验研究已证明黄连具有明显的降血糖作用, 其活性成分为小檗碱^[3,4], 因此, 本实验采用高效液相色谱法重点观察了黄连与生地的不同配伍比例对黄连活性成分小檗碱溶出率的影响。实验的结果表明: 在所观察的黄连与生地的 3 个配伍比

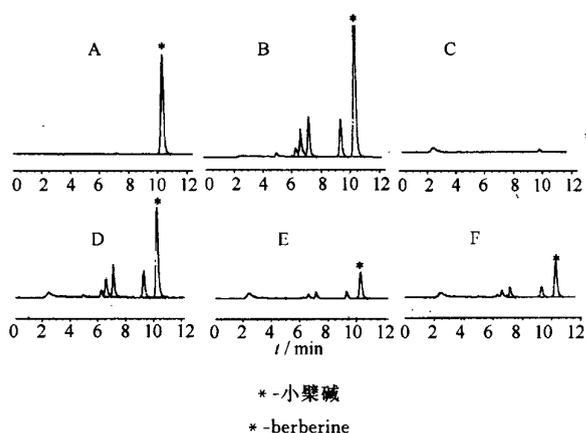


图 1 盐酸小檗碱(A)、黄连(B)、生地(C),合煎剂 1 : 1、1 : 4、1 : 8 比例(D、E、F)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of berberine (A), *Rhizoma Coptidis* (B), dried *Radix Rehmannia* (C), and their different compatibility ratio of 1 : 1, 1 : 4, 1 : 8 (D, E, F)

例中,黄连与生地以 1 : 8 配伍组,其小檗碱溶出率

明显高于 1 : 1、1 : 4 配伍组,说明临床工作发现的大剂量生地配伍黄连能明显增强黄连丸的降糖效应确有其物质基础。至于大剂量生地能增加小檗碱溶出率的化学基础可能与生地含有大量的脂肪酸、磷酸有关,后者可以降低 pH 值,而小檗碱等生物碱的溶出率会随着 pH 值的降低而升高。此外,黄连丸中生地的活性成分梓醇在不同配伍比例中的变化,有待进一步研究。

References:

[1] Chen K J. Therapeutic observation of 23 diabetes cases [J]. *J Tradit Chin Med* (中医杂志), 1961 (5): 17-19.
 [2] Li Z, Ma G F. Experimental study on decoction of *Radix Rehmanniae* and *Radix Coptis* affecting fasting blood-glucose, serum insulin in mice with alloxan diabetes [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2000, 27 (12): 573-574.
 [3] Chen Q M, Xie M Z. Studies on the hypoglycemic effect of *Coptis chinensis* and berberine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1986, 21 (6): 401-403.
 [4] Ni Y X, Liu A F, Gao Y F. Therapeutic effect of berberine on 60 patients with type I diabetes mellitus and experimental research [J]. *J Integr Tradit West Med* (中西医结合杂志), 1988, 8 (12): 711-713.

HPLC 法测定清肌瘤胶囊中牻牛儿酮

何秀英, 章建民, 何娟

(浙江省立同德医院, 浙江 杭州 310007)

清肌瘤胶囊是由水蛭、莪术、三七、蜈蚣等 8 味中药组成的复方制剂,具有活血破瘀、祛痰通络、消积化癥之功效,主要用于瘀痰互结胞宫、子宫肌瘤、月经延期、经量较少、小腹疼痛。为控制该制剂质量,本实验对其中莪术的牻牛儿酮进行测定,为该药的质量控制提供了定量评价方法。

1 仪器与试剂

LC-10AT 型高效液相色谱仪,SPD-10A 型紫外检测器(日本岛津)。牻牛儿酮对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111665-200401);乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。清肌瘤胶囊与缺牻牛儿酮的阴性对照均由本院制剂室提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil CN (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (40 : 60); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 210 nm; 进样量: 20 μL。理论板数按牻牛儿酮峰计算应不低于 5 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取牻牛儿酮对照品 19.0 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液(牻牛儿酮质量浓度为 760 μg/mL)。精密吸取贮备液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 即得(牻牛儿酮的质量浓度为 15.2 μg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品内容物 3 g, 精密称定, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密加入乙醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 浸泡过夜, 超声提取 30 min, 取出, 放冷, 用流动相补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备: 缺莪术的阴性对照, 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.5 干扰试验: 照上述色谱条件, 精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 20 μL 分别注入液相色谱仪。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 而阴性对照液在