

5 μm)和 Aichrom C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)做相关考察,均可基本达到基线分离。综合考虑分析时间、峰形对称度及美观度等因素,用 Kromasil C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)为本实验的分析用色谱柱。

取五味子醇甲对照品用流动相甲醇-水(60:40)溶解,对五味子醇甲进行紫外扫描(190~400 nm),结果五味子醇甲在 251 nm 波长处有最大吸收,因此确定测定波长为 250 nm。

五味子醇甲的提取溶液一般有甲醇、乙醇等。本实验分别采用甲醇、乙醇、50%甲醇作为提取溶剂,以其中五味子醇甲的质量分数作为衡量指标,结果3种提取溶剂得出的五味子醇甲的质量分数分别是 0.72、0.71、0.69 mg/g,所以当提取溶剂为甲醇

时,五味子醇甲的提取效率最高,本实验予以选用。

实验对样品提取方法进行了筛选考察,对超声处理、回流提取两种方法进行了对比,以五味子醇甲的质量分数作为衡量指标,结果五味子醇甲分别为 0.72、0.71 mg/g,没有明显区别,而且超声方法相对简单,故选定。分别超声处理 15、30、45 min,结果五味子醇甲的质量分数分别为 0.67、0.72、0.72 mg/g,由上可见,超声处理 30 min 可基本将样品中五味子醇甲提取完全,而且时间相对较短,故选择超声处理时间为 30 min。

参考文献:

- [1] 王怡君,郭兰建,周文生,等. HPLC法测定中风康丸中五味子醇甲的含量[J]. 中草药,1990,30(7):511.

HPLC 法测定黄连明目丸中盐酸小檗碱

苏亚¹,卢敏^{2*}

(1. 台州市黄岩区红十字医院,浙江 台州 318020; 2. 浙江永宁药业股份有限公司,浙江 台州 318020)

黄连明目丸由黄连、决明子、五味子等组成,具有滋肾明目、平肝熄风功效,用于肝肾亏虚,视力模糊,畏光流泪等。黄连为该方君药,盐酸小檗碱为其主要活性成分,具清热解毒作用。本实验拟测定制剂中盐酸小檗碱以控制产品质量。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪,Agilent 1100 DAD 检测器;岛津 UV-260 紫外分光光度计。

盐酸小檗碱(批号 110713-200805)由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯,其余为分析纯。黄连明目丸样品由实验室自制(批号:080801、080802、080803)。

2 方法及结果

2.1 色谱条件^[1]:色谱柱 Discovery C-18(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(10%氢氧化钾试液调节 pH 5.0)(30:70)为流动相;检测波长为 350 nm;体积流量:1 mL/min;进样量为 5 μL 。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24 h 的盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成 20 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取黄连明目丸适量研细,取约 0.5 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入盐酸-甲醇(1:100)适量,浸渍 30 min 后超声处理 30 min,放冷,加溶剂至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.4 空白试验:取缺黄连样品按供试品制备法制备,并取适量注入液相色谱仪,结果显示在盐酸小檗碱相同保留时间处无吸收峰。见图 1。

2.5 线性关系考察:精密量取 21.32 $\mu\text{g/mL}$ 盐酸小檗碱对照品溶液 1、2、4、6、8、10、12 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 0.287 X + 0.929$, $r = 0.9995$ 。显示盐酸小檗碱进样量在 21.32~255.84 ng 有良好的线性关系。

2.6 精密度试验:取盐酸小檗碱对照品溶液,按以上色谱条件重复进样 6 次,测定峰面积的 RSD 为 1.7%。

2.7 稳定性试验:取黄连明目丸供试品溶液,按以上色谱条件,分别在 0、8、12、24、33 h 进样,测定盐酸小檗碱峰面积,结果 RSD 为 1.1%($n=5$),显示供试品溶液至少在 33 h 内稳定。

2.8 重现性试验:取批号 080801 黄连明目丸样品
(下转第 967 页)

* 收稿日期:2009-02-20

作者简介:苏亚(1967—),女,浙江黄岩人,主管中药师,毕业于北京中医药大学。Tel: 13575809997 E-mail: 420068841@qq.com

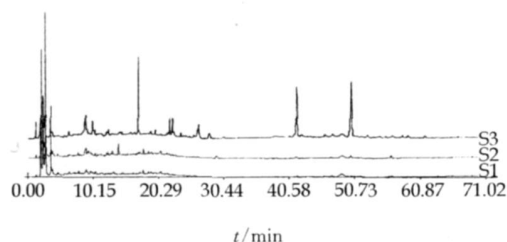


图 3 土牛膝根及茎 HPLC 图谱(S1,S2 为茎,S3 为根)

Fig 3 HPLC Chromatogram for root and stem

of *E. chinense* (S1 and S2-stem; S3-root)

腈-0.3%磷酸水溶液、乙腈-0.2%磷酸水溶液等度和梯度洗脱方式,并对梯度洗脱程序进行优化,结果表明以乙腈-水系统为最佳。各色谱峰分离度较好,峰型尖锐,保留时间适中。

3.3 供试品溶液制备条件的选择:考察了回流、超声提取方式及甲醇、95%乙醇、70%乙醇提取溶剂。结果表明,回流提取方式得到的色谱峰峰面积大,峰数多,优于超声提取。甲醇提取的色谱峰最多,提取完全。故供试品溶液制备采用甲醇回流提取 1 h。

3.4 指纹图谱的建立:通过指纹图谱整体图形、共有特征峰、相对保留时间等参数可对药材进行鉴定,

通过各共有峰相对峰面积可对药材的质量进行评价。10 批广东土牛膝药材指纹图谱中,13 个共有峰相对保留时间符合程度较好,说明不同来源的广东土牛膝药材中组分有其一致性。但是 10 批药材共有峰相对峰面积有一定的差异,说明 10 批药材的质量是有差异的。

3.5 广东土牛膝根茎指纹图谱比较:在收集样品的过程中,发现市售部分药材含有茎,个别甚至以茎为主,因此本实验对广东土牛膝的茎进行 HPLC 测定。结果表明,与广东土牛膝对照图谱差异显著,说明广东土牛膝根和茎成分差异较大。

参考文献:

- [1] 广东省中药材标准[S]. 2004.
- [2] 张丹雁,王宏,赖秀珍. 广东土牛膝化学成分的研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 1999, 39(4): 232.
- [3] 曾品会. 土牛膝根对白喉杆菌的抑制和对动物实验的观察[J]. 广东中医, 1959(9): 345-347.
- [4] 陈国清,邱小梅,郑鸣金,等. 14 种草药对白喉菌的抗生力中及其对白喉毒素作用的观察[J]. 福建中医药, 1964(9): 137-147.
- [5] 刘晓燕,曾晓春,江剑东,等. 广东土牛膝抗炎镇痛的研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(9): 635-636.
- [6] 中药注射剂色谱指纹图谱研究技术要求[S]. 2000.

(上接第 914 页)

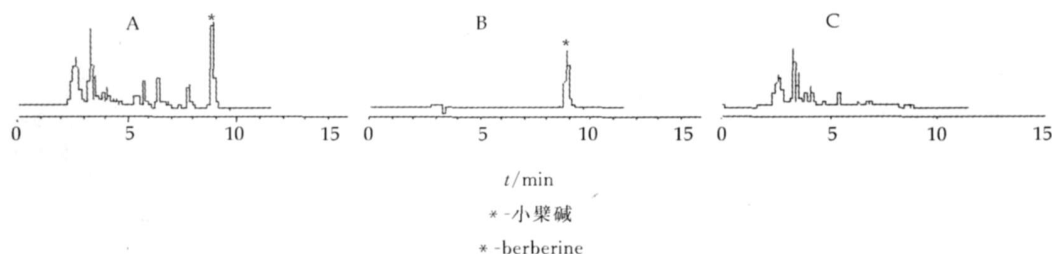


图 1 黄连明目丸(A)、盐酸小檗碱对照品(B)和缺黄连的阴性样品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of Huanglian Mingmu Pills (A), berberine hydrochloride reference substance (B), and negative sample (C)

6 份,分别精密称定,制备供试品溶液,进样测定盐酸小檗碱峰面积,计算得盐酸小檗碱的质量分数为 1.313 mg/g,其 RSD 为 1.12%。

2.9 回收率试验:取批号 080801 黄连明目丸样品 5 份,每份 0.25 g,精密称定,加入 0.277 4 mg 盐酸小檗碱对照品,制备供试品溶液,进样测定,计算,结果平均回收率为 100.1%,RSD 为 0.8%。

2.10 样品测定:取 3 批黄连明目丸样品,制备供试品溶液。分别精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液与供试品溶液各 5 μ L 注入液相色谱仪,测定,计算,结果见表 1。

3 讨论

采用加盐酸-甲醇(1:100)直接超声处理 15、

表 1 黄连明目丸中盐酸小檗碱的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of berberine hydrochloride in Huanglian Mingmu Pills (n=3)

批号	盐酸小檗碱/(mg·g ⁻¹)
080801	1.31
080802	1.38
080803	1.39

30 min、预浸 30 min 后超声 30 min、预浸 60 min 后超声 60 min,2 倍溶剂预浸 60 min 后超声 30 min 方法提取对盐酸小檗碱的影响,结果显示上述方法测定结果无明显差异,为保证提取完全,选择超声提取 30 min。

参考文献:

- [1] 丘文珍. HPLC 法测定障眼片中盐酸小檗碱[J]. 中草药, 2007, 38(7): 1030-1031.