

# 连朴饮传统煎剂与中药配方颗粒中盐酸小檗碱的含量比较<sup>△</sup>

罗秀琼\*, 冯 华(遵义市食品药品检验所, 贵州 遵义 563002)

中图分类号 R283;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)07-0637-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.07.22

**摘要** 目的:建立连朴饮传统煎剂(合煎剂)与中药配方颗粒(分煎剂)中盐酸小檗碱的含量测定方法并比较二者含量。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V)(每100 ml加十二烷基磺酸钠0.1 g),流速为1.0 ml/min,检测波长为265 nm。结果:盐酸小檗碱进样量在2.0~10.0 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.999 2$ );平均加样回收率为97.30%, RSD=1.22%( $n=6$ )。结论:与传统煎剂比较,连朴饮中药配方颗粒中盐酸小檗碱的含量更高。

**关键词** 连朴饮;盐酸小檗碱;合煎;分煎;中药配方颗粒;高效液相色谱法

## Comparison of the Contents of Berberine Hydrochloride in Traditional Decoctions vs. TCM Formula Granules of *Lianpu Drink*

LUO Xiu-qiong, FENG Hua (Zunyi Institute for Food and Drug Control, Guizhou Zunyi 563002, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of berberine hydrochloride in traditional decoction (mixed decoction) vs. TCM formula granules (separated decoction) of *Lianpu drink*, and to compare the contents of them. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Diamonsil C<sub>18</sub> column (200 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (50:50, V/V) (0.1 g sodium xanthate dodecyl added into 100 ml solution), at the flow rate of 1.0 ml/min; detection wavelength was set at 265 nm. RESULTS: The linear range of berberine hydrochloride were 2.0-10.0 μg ( $r=0.999 2$ ) with average recovery of 97.30% (RSD=1.22%,  $n=6$ ). CONCLUSION: The content of berberine hydrochloride in TCM formula granules of *Lianpu drink* is higher than in traditional decoction.

**KEY WORDS** *Lianpu drink*; Berberine hydrochloride; Mixed decoction; Separated decoction; TCM formula granules; HPLC

连朴饮出自《霍乱论》,处方由制厚朴6 g、川黄连3 g、石菖蒲3 g、制半夏3 g、香豉9 g、焦栀子9 g、芦根60 g组成,具有清热化湿、理气和中之功效,临床上主要用于治疗湿热霍乱、上吐下泻、胸脘痞闷、心烦躁扰、小便短赤、舌苔黄腻、脉滑等。处方中川黄连是毛茛科植物黄连的一种,为黄连的道地药材。在此处方中川黄连量虽少但却作为君药发挥主要的药理作用,而在川黄连中发挥主要功效且含量最高的成分为盐酸小檗碱,约含5%~8%。用分煎法(中药配方颗粒)与合煎法(传统煎剂)制备的连朴饮中药复方煎剂,其有效成分的含量有何变化,其药理作用又有何变化,一直是中医药理论和临床实践中值得探讨的课题;特别是近年来中药配方颗粒逐渐在临床上推广应用,更引起大家的重视。本试验以中药经方连朴饮中的有效成分盐酸小檗碱作为指标,采用高效液相色谱(HPLC)法比较连朴饮传统煎剂与中药配方颗粒中盐酸小檗碱的含量差异,以探索中药复方制剂不同制法对其有效成分提取量的影响。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1525型HPLC仪、紫外检测器(美国Waters公司);KQ-

<sup>△</sup>基金项目:遵义市中药现代化科技产业研究开发专项项目(市科合中药专字[2009]4号)资助

\*副主任药师。研究方向:药品检验及质量标准。电话:0852-8923593。E-mail:570108940@qq.com

300DE型超声仪(北京中仪友信科技有限公司)。

### 1.2 试剂

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110749-200572);甲醇、乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水。

### 1.3 药材

制厚朴、川黄连、石菖蒲、制半夏、香豉、焦栀子、芦根均由贵州遵义市医药有限公司提供,均经遵义市食品药品检验所邓顺超副主任中药师鉴定为真品,均符合2010年版《中国药典》(一部)规定;中药配方颗粒由贵州省三仁堂药业有限公司制备。

## 2 方法与结果

### 2.1 处方与煎制

2.1.1 处方 制厚朴6 g、川黄连3 g、石菖蒲3 g、制半夏3 g、香豉9 g、焦栀子9 g、芦根60 g。

2.1.2 传统煎剂(合煎剂)的煎制 按处方取各药材,加相当于药材8倍量的水煎煮,保持微沸30 min,倒出煎液;药渣再加8倍量的水煎煮20 min。合并2次煎液,减压干燥成干粉。

2.1.3 中药配方颗粒(分煎剂)的煎制 分别称取上述处方量的药材,分别加8倍量的水煎煮2次,每次保持微沸30 min,制备各药材的煎液,减压干燥成干粉,分别制粒后混匀。

两者的干粉率均约20%。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V)(每100 ml加十二烷基磺酸钠0.1 g);流速:1.0 ml/min;检测波长:265 nm<sup>[1-3]</sup>;柱温:30 ℃。

## 2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品贮备液 精密称取盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成每1 ml含盐酸小檗碱1 mg的溶液,作为对照品贮备液。

2.3.2 传统煎剂(合煎剂)的供试品溶液 取合煎法制得的干粉约2.0 g,精密称定,置100 ml量瓶中,用适量开水溶解,放冷后定容。精密吸取5 ml,置10 ml量瓶中,加甲醇适量,超声处理(功率:250 W,频率:20 kHz)25 min,取出,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,取续滤液,用0.45 μm微孔滤膜滤过,即得传统煎剂的供试品溶液。

2.3.3 中药配方颗粒(分煎剂)的供试品溶液 称取分煎法制得的中药配方颗粒约2.0 g,精密称定,照“2.3.2”项下方法制备中药配方颗粒的供试品溶液。

2.3.4 阴性对照溶液 按“2.1.2”项下方法制备不含川黄连的阴性样品,再按“2.3.2”项下方法制备阴性对照溶液。

## 2.4 干扰试验

取盐酸小檗碱对照品溶液、传统煎剂(合煎剂)供试品溶液及不含川黄连的阴性对照溶液各20 μl注入HPLC仪测定。结果发现,在此色谱条件下,盐酸小檗碱峰与其他组分峰分离完全,阴性对照在与盐酸小檗碱峰相同的保留时间处无干扰。色谱见图1。

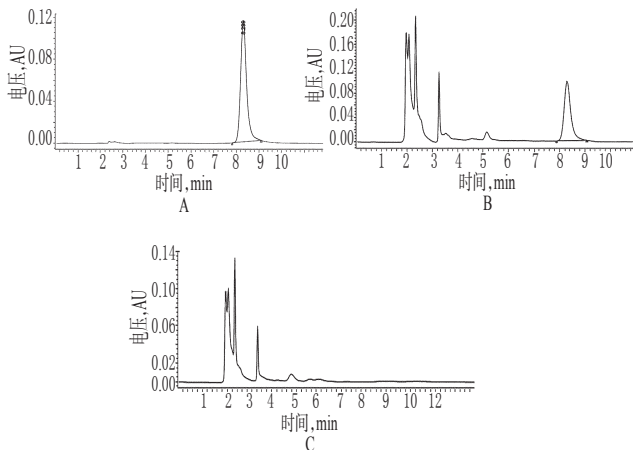


图1 高效液相色谱图

A. 盐酸小檗碱对照品; B. 供试品; C. 阴性对照

Fig 1 HPLC chromatograms

A. berberine hydrochloride control; B. test sample; C. negative control

## 2.5 线性关系考察

分别精密量取质量浓度为1.001 2 mg/ml的盐酸小檗碱对照品贮备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,置10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得系列质量浓度的盐酸小檗碱对照品溶液,分别进样20 μl,照上述色谱条件测定峰面积。以进样量(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=5.0 \times 10^6 x + 1.0 \times 10^6$  ( $r=0.999 2, n=5$ )。结果表明,盐酸小檗碱进样量在2.0~10.0 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

## 2.6 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液20 μl,按“2.2”项下色谱条件重复进样5次,测定峰面积,结果,RSD=0.28% ( $n=5$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液[传统煎剂(合煎剂)]适量,分别于室温下放置0、4、8、16、24 h,取20 μl进样,测定峰面积。结果,RSD=1.03% ( $n=5$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定。

## 2.8 重复性试验

精密称取同一样品[传统煎剂(合煎剂)]适量,按“2.3.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定。结果,RSD=1.2% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量(每1 g含7.96 mg)的[传统煎剂(合煎剂)]样品粉末适量,共6份,分别置50 ml量瓶中,用适量开水溶解,再分别精密加入盐酸小檗碱对照品溶液(质量浓度为1.661 mg/ml)5 ml,放冷后加甲醇定容,摇匀,取续滤液,用0.45 μm微孔滤膜滤过,按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery tests ( $n=6$ )

编号	称样量/g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	$\bar{x}$ , %	RSD, %
1	1.071 0	3.410	3.322	6.620	96.63		
2	1.110 6	3.536	3.322	6.768	97.29		
3	1.086 0	3.458	3.322	6.733	98.59	97.30	1.22
4	1.063 4	3.386	3.322	6.552	95.30		
5	1.091 4	3.475	3.322	6.725	97.83		
6	1.070 0	3.407	3.322	6.667	98.13		

## 2.10 样品含量测定

分别按“2.1.2”、“2.1.3”项下制备方法各制备3份样品,再分别按“2.3.2”、“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,照“2.2”项下色谱条件进样测定,计算样品中盐酸小檗碱的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $n=3$ )

编号	合煎剂(传统煎剂)		分煎剂(中药配方颗粒)	
	含量, mg/g	平均含量, mg/g	含量, mg/g	平均含量, mg/g
1	7.91		10.02	
2	7.96	7.91	9.98	9.97
3	7.86		9.90	

由表2可见,连朴饮分煎剂中盐酸小檗碱的平均含量比合煎剂高。

## 3 讨论

采用HPLC法测定中药复方制剂中盐酸小檗碱的含量,文献报道可用多种不同组成的流动相系统<sup>[4-7]</sup>。本试验参考文献和《中国药典》方法,选用乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V)(每100 ml加十二烷基磺酸钠0.1 g)作为流动相。结果表明,盐酸小檗碱峰形较为理想,与杂质峰能达到基线分离。

连朴饮传统煎剂(合煎剂)与中药配方颗粒(分煎剂)中盐酸小檗碱的含量比较结果表明,中药配方颗粒(分煎剂)比传统煎剂(合煎剂)中有效成分盐酸小檗碱的含量高。原因可能是传统煎剂(合煎剂)中各药材之间的相互化学作用,如沉淀反应等导致其结果偏低。传统煎剂(合煎剂)中有效成分含量较低是否为一个普遍现象,还有待广泛的研究。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:286-287.
- [2] 蔡俊安. 高效液相色谱法测定二妙丸中盐酸小檗碱的含

# 血栓心脉宁片的HPLC-ELSD指纹图谱研究

明磊\*,林美好,张庆贺,刘海宇,卢丹,李平亚,刘金平<sup>#</sup>(吉林大学再生医学科学研究所,长春 130021)

中图分类号 R283.64;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)07-0639-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.07.23

**摘要** 目的:建立血栓心脉宁片的高效液相色谱(HPLC)-蒸发光散射检测器(ELSD)指纹图谱。方法:色谱柱为Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm),柱温为40℃,流动相为乙腈-1%冰醋酸(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,采用ELSD进行测定;应用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A版)进行评价。结果:10批血栓心脉宁片的HPLC-ELSD指纹图谱有17个共有峰,精密度、重复性、稳定性试验中各共有峰的相对峰面积与相对保留时间的RSD均<4%;10批样品的相似度在0.880~1.000之间。结论:本方法简便、准确、重复性好,可用于血栓心脉宁片的质量控制,可为血栓心脉宁片的深入研究提供基础。

**关键词** 血栓心脉宁片;指纹图谱;高效液相色谱-蒸发光散射检测器法

## Fingerprint of Xueshuan Xinmaining Tablet by HPLC-ELSD

MING Lei, LIN Mei-yu, ZHANG Qing-he, LIU Hai-yu, LU Dan, LI Ping-ya, LIU Jin-ping (Institute of Frontier Medical Science, Jilin University, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish fingerprint of Xueshuan xinmaining tablet by using HPLC-ELSD. METHODS: The analysis was performed on Diamonsil C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-1% acetic acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. ELSD method was used; the data were analyzed by chromatographic fingerprint evaluation system (2004A version). RESULTS: 17 common peaks were found in HPLC-ELSD fingerprints of 10 batches of Xueshuan xinmaining tablet. In precision, reproducibility and stability test, RSDs of relative peak area and relative retention time of common peaks were less than 4%. The similarities of 10 batches of samples were between 0.880 and 1.000. CONCLUSION: The method is simple, accurate and reproducible, and it is suitable for the quality control of Xueshuan xinmaining tablet. It provides basis for the further study of Xueshuan xinmaining tablet.

**KEY WORDS** Xueshuan xinmaining tablet; Fingerprint; HPLC-ELSD

血栓心脉宁片是由川芎、槐花、丹参、水蛭、毛冬青、人工牛黄、人工麝香、人参茎叶总皂苷、冰片、蟾酥10味中药制成的片剂,具有益气活血、开窍止痛的功效,用于治疗气虚血瘀所致的中风、胸痹,症见头晕目眩、半身不遂、胸闷心痛、心悸气短;缺血性中风恢复期、冠心病、心绞痛见上述症候者<sup>[1]</sup>。药理实验研究结果表明,血栓心脉宁片对大鼠实验性脑缺血<sup>[2]</sup>、大鼠急性心肌梗死<sup>[3]</sup>及心血管疾病<sup>[4]</sup>均具有明显保护作用,对急性血瘀模型大鼠血液黏度、血小板聚集及血液流变学的异常变化有明显改善作用<sup>[5]</sup>。已有文献以单体成分丹参酮II<sub>A</sub>和丹酚酸B的含量作为质控指标评价该药的质量<sup>[6-7]</sup>,但对于该药指纹图谱的研究尚未见报道。笔者应用高效液相色谱-蒸发光

散射检测器(HPLC-ELSD)建立了血栓心脉宁片指纹图谱的测定方法。通过测定10批样品,应用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A版)对其进行评价,建立了血栓心脉宁片的指纹图谱,为全面评价该药质量提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-10AT<sub>VP</sub> HPLC仪、SEDEX FRANCE 75 ELSD、Chromato-Solution Light 色谱工作站(日本Shimadzu公司)。

### 1.2 药品与试剂

血栓心脉宁片(吉林华康药业股份有限公司,批号:110116、110118、110126、110127、110205、110301、110302、

- 量[J].中国中医药信息杂志,2011,18(1):55.
- [3] 王静,秦伟.HPLC法测定康妇膜中盐酸小檗碱的含量[J].中国药房,2011,22(35):3309.
- [4] 江汉美,叶代望,熊维利,等.反相高效液相色谱法测定葛根芩连片中盐酸小檗碱的含量[J].湖北中医药大学学报,2011,13(1):30.

\* 硕士研究生。研究方向:天然药物化学成分。电话:0431-85619803。E-mail:minglei-418@163.com

# 通信作者:副教授,硕士研究生导师。研究方向:天然药物化学成分及其生物活性。电话:0431-85619803。E-mail:liujp@jlu.edu.cn

- [5] 梁海春,石书江,李一圣,等.HPLC法测定加味胃炎消片中野黄芩苷、盐酸小檗碱的含量[J].中药新药与临床药理,2011,22(1):96.
- [6] 张秀桥,周东斌,刘炎文,等.三黄泻心汤传统煎剂与中药配方颗粒汤剂中盐酸小檗碱含量测定比较[J].中国医院药学杂志,2002,22(7):408.
- [7] 陈思好,翟小燕.高效液相色谱法测定双柏膏中盐酸小檗碱含量[J].医学信息:下旬刊,2010,23(9):177.

(收稿日期:2012-02-09 修回日期:2012-07-23)