

HPLC法同时测定四味姜黄汤散中7种成分的含量^Δ

赵 娅*,冯 慧,周 珍,郝 露,周邦华,赖先荣[#](成都中医药大学民族医药学院,成都 611137)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0029-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.08

摘要 目的:建立同时测定四味姜黄汤散中没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Capcell Pak C₁₈-MG II,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为0.8 mL/min,检测波长为270 nm(0~60 min,没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱)和428 nm(60~70 min,姜黄素),柱温为30 ℃,进样量为10 μL。结果:没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素进样量检测线性范围分别为0.249 6~1.497 6、0.284 0~1.704 0、0.075 6~0.453 6、0.015 9~0.095 9、0.023 6~0.141 6、0.098 2~0.589 0、0.060 4~0.362 4 μg($r \geq 0.999 8$);检测限分别为6.24、4.73、7.56、2.36、3.20、6.54、6.04 ng,定量限分别为17.47、16.08、20.86、7.31、10.24、19.62、19.32 ng;精密密度、稳定性(12 h)、重复性试验的RSD<2.0%($n=6$);加样回收率为95.45%~103.47%,RSD为0.86%~1.98%($n=9$)。结论:建立的方法操作简便,结果准确可靠,适用于四味姜黄汤散中没食子酸等7种成分含量的同时测定。

关键词 四味姜黄汤散;高效液相色谱法;没食子酸;木兰花碱;鞣花酸;盐酸药根碱;盐酸巴马汀;盐酸小檗碱;姜黄素;含量测定

Simultaneous Determination of 7 Components in Siwei Jianghuang Decoction Powder by HPLC

ZHAO Ya, FENG Hui, ZHOU Zhen, HAO Lu, ZHOU Banghua, LAI Xianrong (Ethnomedicine College, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of gallic acid, magnoflorine, ellagic acid, jatrorrhizine hydrochloride, palmatine hydrochloride, berberine hydrochloride and curcumin in Siwei jianghuang decoction powder. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Capcell Pak C₁₈-MG II column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 0.8 mL/min. The detection wavelengths were 270 nm (0-60 min, gallic acid, magnoflorine, ellagic acid, jatrorrhizine hydrochloride, palmatine hydrochloride, berberine hydrochloride) and 428 nm (60-70 min, curcumin). The column temperature was set at 30 ℃, and sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of gallic acid, magnoflorine, ellagic acid, jatrorrhizine hydrochloride, palmatine hydrochloride, berberine hydrochloride and curcumin were 0.249 6-1.497 6, 0.284 0-1.704 0, 0.075 6-0.453 6, 0.015 9-0.095 9, 0.023 6-0.141 6, 0.098 2-0.589 0 and 0.060 4-0.362 4 μg ($r \geq 0.999 8$). The limits of detection were 6.24, 4.73, 7.56, 2.36, 3.20, 6.54, 6.04 ng, and the limits of quantitation were 17.47, 16.08, 20.86, 7.31, 10.24, 19.62, 19.32 ng, respectively. RSDs of precision, stability (12 h), reproducibility tests were lower than 2.0% ($n=6$). The recoveries were 95.45% -103.47% (RSD=0.86% -1.98%, $n=9$). CONCLUSIONS: Established method is simple, accurate, reliable and suitable for simultaneous determination of 7 components such as gallic acid in Siwei jianghuang decoction powder.

KEYWORDS Siwei jianghuang decoction powder; HPLC; Gallic acid; Magnoflorine; Ellagic acid; Jatrorrhizine hydrochloride; Palmatine hydrochloride; Berberine hydrochloride; Curcumin; Content determination

四味姜黄汤散(藏药名:勇哇西汤)由君药姜黄、臣药小檗皮、佐药余甘子、使药蒺藜组成,具有清热、利尿等功效,用于尿道炎、尿频、尿急等症^[1],是藏医治疗“尿频症”的复方制剂,另还用于“京尼萨库病”(属于糖尿病

范畴)的治疗^[2]。四味姜黄汤散收录于《中华人民共和国卫生部药品标准:藏药》(第一册)^[3],其中仅有性状描述,未见含量控制项,难以保障藏医临床用药的有效性。目前有采用高效液相色谱法(HPLC)测定其单一成分^[1-4]、4种成分(木兰花碱、药根碱、巴马汀、小檗碱)^[5]和3种成分(盐酸小檗碱、槲皮素、姜黄素)^[6]控制其质量的文献报道。由于藏药复方成分复杂,成分间可发生相互作用,因此仅控制其中少数成分含量,很难全面反映其质量^[7]。鉴于此,本文采用HPLC法同时测定该制剂中姜黄的有效成分姜黄素^[8],小檗皮的有效成分木兰花碱、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱^[9-10],余甘子的有效成分没

Δ 基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81473427、81173360、81303310、81560806);四川省科技厅科技支撑计划项目(No.2011SZ0298);四川省教育厅重点项目(No.16ZA0120、10ZA092);四川省高校科研创新团队建设计划项目(No.11TD004)

* 硕士研究生。研究方向:中药及民族药创新药物。E-mail: 1720218908@qq.com

通信作者:副研究员。研究方向:中药及民族药创新药物。E-mail: vegf@qq.com

食子酸、鞣花酸^[11]的含量,以期为完善该制剂的质量标准提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括G1311B型四元泵、内置真空脱气机、G1329B型标准自动进样器、G1315D型二极管阵列检测器、G1316A柱温箱、Chemstation色谱工作站(美国Agilent公司);BSA124S型万分之一、CPA225D型十万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];KQ-50B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UPH-I-10T型优普纯水制造系统(成都超纯科技有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

姜黄药材(批号:20151101)、余甘子药材(批号:20151101)、蒺藜药材(批号:20151101)均购自成都市国际商贸城药材市场,小檗皮药材(批号:20141201)由西藏甘露藏药厂提供,均经成都中医药大学赖先荣、范刚副研究员鉴定为姜科植物姜黄 *Curcuma Longa* L. 的干燥根茎、大戟科植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实、蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实、为小檗科小檗属植物刺红珠 *Berberis kansuensis schneid* 的干燥根茎。按姜黄 15 g、小檗皮 12.5 g、余甘子 25 g 和蒺藜 25 g 的处方比例,制成粗粉,过筛,混匀,即得 3 批样品(批号分别为 20151101、20151102、20151103)。

没食子酸(批号:110831-201204,含量:以 89.9% 计)、盐酸药根碱(批号:110733-201108,含量:以 90.3% 计)、盐酸巴马汀(批号:110732-201309,含量:以 86.6% 计)、盐酸小檗碱(批号:110713-201212,含量:以 86.7% 计)、姜黄素(批号:110823-201004,含量:以 98.8% 计)均购于中国食品药品检定研究院;木兰花碱(批号: MUST-14122416,含量:以 99.77% 计)、鞣花酸(批号: MUST-16062603,含量:以 99.65% 计)均购于四川赛因斯特生物科技有限公司;磷酸、乙腈为色谱纯,甲醇、盐酸为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Capcell Pak C₁₈-MG II (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~8 min, 3% A; 8~15 min, 3%→17% A; 15~20 min, 17% A; 20~33 min, 17%→19% A; 33~38 min, 19%→25% A; 38~48 min, 25% A; 48~70 min, 25%→80% A);流速:0.8 mL/min;检测波长:270 nm(0~60 min, 没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱)和 428 nm(60~70 min, 姜黄素);柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素对照品 12.48、14.20、3.78、1.18、0.80、4.91、3.02

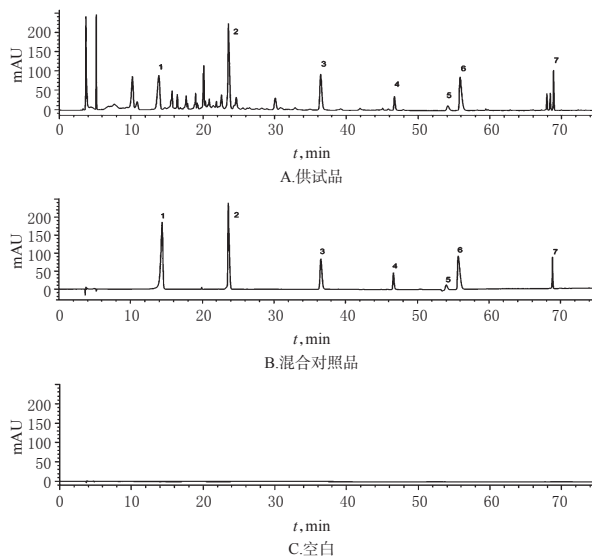
mg,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇使溶解并定容,摇匀,制成没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素质量浓度分别为 1.248、1.420、0.378、0.118、0.080、0.491、0.302 mg/mL 的单一对照品贮备液。再分别取上述单一对照品贮备液各 1 mL,置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。用锡箔纸将配好的量瓶包好,冷藏于冰箱中(4 ℃),备用。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品 0.5 g,置于具塞锥形瓶中,加入 90% 甲醇-盐酸溶液(100:2, V/V) 50 mL,摇匀,称定质量,超声(功率:200 W,频率:40 kHz,下同)处理 20 min,冷却至室温;再次称定质量,用盐酸-90% 甲醇溶液(2:100, V/V)补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 空白溶液 取流动相适量作为空白溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和空白溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果,在该色谱条件下,各待测成分间、待测成分与杂质峰间均能达到基线分离,分离度>1.5,其他成分对待测成分的测定无干扰,理论板数以没食子酸峰计>5 000,详见图 1。



1.没食子酸;2.木兰花碱;3.鞣花酸;4.盐酸药根碱;5.盐酸巴马汀;6.盐酸小檗碱;7.姜黄素

1. gallic acid; 2. magnoflorine; 3. ellagic acid; 4. jatrorrhizine hydrochloride; 5. palmatine hydrochloride; 6. berberine hydrochloride; 7. curcumin

图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液 2、4、6、8、10、12 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量为横坐标(x, μg)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,线性关系考察结果见表 1。

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。当

表1 线性关系考察结果($n=6$)Tab 1 Results of linear relationship investigation ($n=6$)

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg
没食子酸	$y=3\,252.5x-9\,946.7$	0.999 9	0.249 6~1.497 6
木兰花碱	$y=2\,347.5x-12\,487.0$	0.999 8	0.284 0~1.704 0
鞣花酸	$y=4\,732.2x-3\,806.7$	0.999 9	0.075 6~0.453 6
盐酸药根碱	$y=4\,890.8x+0\,720.0$	0.999 9	0.015 9~0.095 9
盐酸巴马汀	$y=4\,291.1x-1\,366.7$	0.999 8	0.023 6~0.141 6
盐酸小檗碱	$y=4\,598.8x+4\,713.3$	0.999 9	0.098 2~0.589 0
姜黄素	$y=8\,871.7x-6\,313.3$	0.999 9	0.060 4~0.362 4

信噪比为3:1时,得检测限;当信噪比为10:1时,得定量限。结果,没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素的检测限分别为6.24、4.73、7.56、2.36、3.20、6.54、6.04 ng,定量限分别为17.47、16.08、20.86、7.31、10.24、19.62、19.32 ng。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,每次10 μL ,记录峰面积。结果,没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素峰面积的RSD分别为0.21%、0.18%、0.36%、0.06%、0.89%、0.13%、0.22% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20151101),分别于室温下放置2、4、6、8、10、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素峰面积的RSD分别为1.93%、0.70%、1.69%、1.04%、1.12%、0.75%、1.08% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:20151101)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素峰面积的RSD分别为1.69%、0.78%、1.57%、1.76%、0.94%、0.84%、1.15% ($n=6$),含量的平均值分别为7.518 8、13.914 3、3.721 3、0.990 3、0.706 5、4.387 8、3.787 4 mg/g,表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取样品(批号:20151101)适量,共9份,每份约0.5 g,精密称定,分别置于10 mL量瓶中,各加入低、中、高质量的待测成分对照品,再按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

2.10 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表3。

表2 加样回收率试验结果($n=9$)Tab 2 Results of recovery tests ($n=9$)

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
没食子酸	0.500 1	3.824 1	1.912 1	5.716 9	98.99	98.26	1.47
	0.500 1	3.824 1	1.912 1	5.695 9	97.89		
	0.500 3	3.824 1	1.912 1	5.717 8	99.04		
	0.500 2	3.824 1	3.824 1	7.609 2	98.98		
	0.500 3	3.824 1	3.824 1	7.611 1	99.03		
	0.500 5	3.824 1	3.824 1	7.474 2	95.45		
	0.500 3	3.824 1	5.736 2	9.471 4	98.45		
	0.500 5	3.824 1	5.736 2	9.357 2	96.46		
	0.500 4	3.824 1	5.736 2	9.561 4	100.02		
木兰花碱	0.500 1	6.901 2	3.450 6	10.394 6	101.24	99.72	1.00
	0.500 1	6.901 2	3.450 6	10.318 3	99.03		
	0.500 2	6.901 2	3.450 6	10.346 6	99.85		
	0.500 4	6.901 2	6.901 2	13.663 0	97.98		
	0.500 0	6.901 2	6.901 2	13.799 6	99.96		
	0.500 3	6.901 2	6.901 2	13.849 3	100.68		
	0.500 0	6.901 2	10.351 8	17.261 3	100.08		
	0.500 1	6.901 2	10.351 8	17.249 9	99.97		
	0.500 2	6.901 2	10.351 8	17.115 3	98.67		
鞣花酸	0.500 0	1.864 5	0.932 3	2.778 7	98.06	99.13	1.98
	0.500 3	1.864 5	0.932 3	2.823 5	102.86		
	0.500 6	1.864 5	0.932 3	2.796 4	99.96		
	0.500 1	1.864 5	1.864 5	3.735 7	100.36		
	0.500 4	1.864 5	1.864 5	3.660 1	96.30		
	0.500 0	1.864 5	1.864 5	3.704 6	98.69		
	0.500 2	1.864 5	2.796 8	4.662 4	100.04		
	0.500 2	1.864 5	2.796 8	4.630 5	98.90		
	0.500 0	1.864 5	2.796 8	4.577 1	96.99		
盐酸药根碱	0.500 0	0.465 8	0.232 9	0.694 2	98.06	97.37	0.97
	0.500 3	0.465 8	0.232 9	0.694 7	98.29		
	0.500 3	0.465 8	0.232 9	0.693 5	97.77		
	0.500 1	0.465 8	0.465 8	0.910 5	95.46		
	0.500 0	0.465 8	0.465 8	0.915 3	96.51		
	0.500 1	0.465 8	0.465 8	0.921 2	97.76		
	0.500 4	0.465 8	0.698 7	1.148 1	97.65		
	0.500 6	0.465 8	0.698 7	1.151 4	98.12		
	0.500 2	0.465 8	0.698 7	1.141 5	96.71		
盐酸巴马汀	0.500 0	0.339 5	0.169 8	0.511 3	101.15	100.70	1.42
	0.500 3	0.339 5	0.169 8	0.507 8	99.12		
	0.500 4	0.339 5	0.169 8	0.506 2	98.15		
	0.500 1	0.339 5	0.339 5	0.681 0	100.59		
	0.500 1	0.339 5	0.339 5	0.678 5	99.86		
	0.500 3	0.339 5	0.339 5	0.686 3	102.16		
	0.500 6	0.339 5	0.509 3	0.853 9	101.00		
	0.500 0	0.339 5	0.509 3	0.858 4	101.88		
	0.500 4	0.339 5	0.509 3	0.861 0	102.39		
盐酸小檗碱	0.500 0	2.339 0	1.169 5	3.487 7	98.22	98.51	0.86
	0.500 1	2.339 0	1.169 5	3.496 9	99.01		
	0.500 4	2.339 0	1.169 5	3.491 8	98.57		
	0.500 7	2.339 0	2.339 0	4.632 6	98.06		
	0.500 3	2.339 0	2.339 0	4.611 6	97.16		
	0.500 2	2.339 0	2.339 0	4.678 9	100.04		
	0.500 0	2.339 0	3.508 5	5.765 8	97.67		
	0.500 0	2.339 0	3.508 5	5.811 7	98.98		
	0.500 1	2.339 0	3.508 5	5.808 9	98.90		
姜黄素	0.500 0	1.894 5	0.947 3	2.850 1	100.88	100.04	1.56
	0.500 0	1.894 5	0.947 3	2.842 0	100.02		
	0.500 1	1.894 5	0.947 3	2.829 3	98.68		

续表2

Continued tab 2

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
姜黄素	0.500 4	1.894 5	1.894 5	3.782 4	99.65		
	0.500 3	1.894 5	1.894 5	3.748 6	97.87		
	0.500 1	1.894 5	1.894 5	3.793 5	100.24		
	0.500 4	1.894 5	2.841 8	4.834 9	103.47		
	0.500 5	1.894 5	2.841 8	4.725 5	99.62		
	0.500 3	1.894 5	2.841 8	4.733 2	99.89		

表3 样品含量测定结果($n=3$, mg/g)Tab 3 Results of content determination of samples ($n=3$, mg/g)

样品批号	没食子酸	木兰花碱	鞣花酸	盐酸药根碱	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	姜黄素
20151101	7.649 6	13.795 9	3.746 5	0.929 1	0.675 0	4.685 5	3.772 0
20151102	7.626 3	13.834 7	3.711 6	0.944 2	0.684 8	4.679 7	3.793 9
20151103	7.668 7	13.776 7	3.728 9	0.921 5	0.676 9	4.668 8	3.801 0

3 讨论

3.1 检测指标的选择

药效研究表明^[12],姜黄素可显著改善链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病大鼠的糖代谢紊乱,降低STZ诱导糖尿病肾病的肾脏肥大指数,防止糖尿病肾病肾纤维化,增加机体抗氧化酶活性等作用。木兰花碱、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对糖尿病及其并发症具有显著的降糖效果,对糖尿病大鼠视网膜损伤有保护作用^[2]。没食子酸、鞣花酸具有显著的降血糖作用^[13-14]。上述7种成分均具有与该复方制剂功能相关的药理活性,因此选取上述成分作为四味姜黄汤散质量控制的指标。

3.2 供试品溶液制备条件考察

3.2.1 提取溶剂中甲醇浓度以及与盐酸的体积比 笔者分别以50%、60%、70%、80%、90%、100%甲醇-盐酸(100:1,100:2,100:3,V/V)溶液为提取溶剂,考察提取效果。结果发现甲醇浓度为90%时,90%甲醇与盐酸体积之比为100:2,对供试品溶液中主要成分的提取效果较好且峰型较好,因此选择90%为提取溶剂中甲醇的浓度,90%甲醇与盐酸体积之比为100:2。

3.2.2 提取溶剂用量 笔者以90%甲醇-盐酸溶液(100:2,V/V)作为提取溶剂,考察其用量为25、50、100、200、500 mL的色谱峰情况。结果发现当提取溶剂用量为50 mL时,待测成分的色谱峰响应度适中,故确定提取溶剂用量为50 mL。

3.2.3 提取时间 笔者以50 mL 90%甲醇-盐酸溶液(100:2,V/V),分别考察超声时间为10、20、30、40 min的提取效果,结果发现超声处理20 min时可以将待测成分提取完全,故确定超声时间为20 min。

3.3 色谱条件的选择

3.3.1 流速 笔者分别考察了流速为0.8、1.0 mL/min时对7种待测成分的分离情况,结果发现由于1.0 mL/min的流速过快,待测成分之间不能得到很好的分离,而流速为0.8 mL/min时可使待测成分之间分离更好,因此最终确定流速为0.8 mL/min。

3.3.2 流动相组成 笔者考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.2%磷酸溶液、乙腈-0.1%三乙胺溶液^[15]为流动相进行梯度洗脱时的色谱情况。结果发现,以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱时,待测成分间分离良好。

3.3.3 检测波长 笔者参考相关文献^[16],采用二极管阵列检测器在200~430 nm波长范围内对供试品溶液进行全波长扫描,结果发现没食子酸、鞣花酸、木兰花碱、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱在270 nm,姜黄素在428 nm波长处,紫外吸收较好,且待测成分互不干扰。因此,选择波长切换法测定上述7种成分的含量,结果表明各待测成分响应信号稳定。

3.4 含量测定结果分析

姜黄素、盐酸小檗碱、没食子酸分别为姜黄、小檗皮、余甘子中的主要有效成分,这3种成分均具有显著的降血糖作用。在样品含量测定结果中上述3种主要有效成分的平均含量分别为3.789 0、4.678 0、7.648 2 mg/g。由于制剂含量测定的结果可能与原料药材的来源、质量、贮藏等多种因素有关,参考相关文献^[4,6],笔者建议将姜黄素、盐酸小檗碱、没食子酸3种成分作为四味姜黄汤散的主要检测指标,暂定制剂中上述3种成分的含量测定限度分别为每1 g汤散不低于3.0、3.5、6.0 mg(按平均含量下浮20%)为宜。

综上所述,本研究建立的方法操作简便,结果准确可靠,适用于四味姜黄汤散中没食子酸、木兰花碱、鞣花酸、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和姜黄素含量的同时测定。

参考文献

- [1] 王岩,陈洪涛,卢方正,等. HPLC法测定四味姜黄汤散中姜黄素的含量[J]. 中国药理学杂志(网络版), 2011, 9(3):59-62.
- [2] 岳丽娟,张燕,向丽,等. 藏药吉尔巴对糖尿病性视网膜病变的影响及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20):149-153.
- [3] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国药品标准:藏药:第一册[S]. 1995:307.
- [4] 杨晓燕,张力力,张琦. HPLC法测定藏药四味姜黄汤散中没食子酸的含量[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2012, 38(3):401-404.
- [5] 姜昕易,张晖芬,王胜男,等. ILs-HPLC同时测定黄柏中5种生物碱含量[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19):3808-3812.
- [6] 戎蓉,沈熊,黄琦芸. HPLC法同时测定四味姜黄汤散中3种成分[J]. 中成药, 2016, 38(1):88-91.
- [7] 张艺,周林,德洛. 基于药效成分体内代谢的藏药方剂配伍规律研究思路与方法[J]. 中国民族医药杂志, 2011, 17(7):33-35.
- [8] 项铭华,翟光喜. 姜黄素口服吸收制剂的研究进展[J]. 药学研究, 2017, 36(2):104-107.
- [9] 李艳,吕秀梅,林亚丽,等. 藏药小檗皮的质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4):592-596.
- [10] 郑晓峰,王勤. 不同部位不同采收季节甘肃小檗属植物中

HPLC法同时测定平脏调神颗粒中8种成分的含量^Δ

程中琴^{1*},刘小妹¹,施崇精¹,王姗姗¹,袁强华²,宋英^{2#}(1.成都中医药大学药学院,成都 610075;2.成都中医药大学附属医院药剂科,成都 610072)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0033-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.09

摘要 目的:建立同时测定平脏调神颗粒中盐酸小檗碱、淫羊藿苷、毛蕊花糖苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芍药苷、芒果苷、丹酚酸B和葛根素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为InertSustain C₁₈,流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH为3,梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为250 nm(0~23 min,葛根素、芒果苷)、230 nm(>23~30 min,芍药苷)、220 nm(>30~50 min,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷)、286 nm(>50~60 min,丹酚酸B)、265 nm(>60~75 min,盐酸小檗碱)、220 nm(>75~90 min,淫羊藿苷),柱温为30 ℃,进样量为10 μL。结果:盐酸小檗碱、淫羊藿苷、毛蕊花糖苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芍药苷、芒果苷、丹酚酸B和葛根素检测质量浓度线性范围分别为4.000~400.0、4.843~484.3、0.498~49.8、2.366~236.6、23.26~2 326.0、3.067~306.7、3.629~362.9、48.23~4 823.2 μg/mL($r \geq 0.999 4$);检测限分别为0.02、0.02、0.02、0.02、0.01、0.02、0.01、0.01 μg/mL,定量限分别为0.07、0.05、0.06、0.05、0.03、0.07、0.02、0.03 μg/mL;精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均<2.0%($n=6$);加样回收率为95.77%~103.50%,RSD为0.77%~2.22%($n=6$)。结论:建立的方法可用于平脏调神颗粒中盐酸小檗碱等8种成分含量的同时测定。

关键词 高效液相色谱法;平脏调神颗粒;盐酸小檗碱;淫羊藿苷;毛蕊花糖苷;毛蕊异黄酮葡萄糖苷;芍药苷;芒果苷;丹酚酸B;葛根素;含量测定

Simultaneous Determination of the Contents of 8 Components in Pingzang Tiaoshen Granule by HPLC

CHENG Zhongqin¹, LIU Xiaomei¹, SHI Chongjing¹, WANG Shanshan¹, YUAN Qianghua², SONG Ying²(1.College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of berberine hydrochloride, icariin, acteoside, isoflavone glucoside, paeoniflorin, mangiferin, salvianolic acid B and puerarin in Pingzang tiaoshen granule. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on InertSustain C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH to 3, gradient elution) with the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 250 nm (0-23 min, puerarin, mangiferin), 230 nm (>23-30 min, paeoniflorin), 220 nm (>30-50 min, isoflavone glucoside, acteoside), 286 nm (>50-60 min, salvianolic acid B), 265 nm (>60-75 min, berberine hydrochloride), 220 nm (>75-90 min, icariin). The column temperature was set at 30 ℃, and sample size was 10 μL. RESULTS: The linear range of berberine hydrochloride, icariin, acteoside, isoflavone glucoside, paeoniflorin, mangiferin, salvianolic acid B and puerarin were 4.000-400.0, 4.843-484.3, 0.498-49.8, 2.366-236.6, 23.26-2 326.0, 3.067-306.7, 3.629-362.9 μg/mL, 48.23-4 823.2 μg/mL($r \geq 0.999 4$), respectively. The limits of detection were 0.02, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.02, 0.01, 0.01 μg/mL; the limits of quantitation were 0.07, 0.05, 0.06, 0.05, 0.03, 0.07, 0.02, 0.03 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and repetition tests were all<2.0% ($n=6$). The average recoveries were 95.77%-103.50% (RSD=0.77%-2.22%, $n=6$). CONCLU-

- 生物碱类含量的比较[J].兰州大学学报(医学版),2009,35(1):71-75.
- [11] 李兵,黄贵庆,卢汝梅,等.余甘子化学成分研究[J].中药材,2015,38(2):290-293.
- [12] 王振富,钟灵.姜黄素对大鼠糖尿病防治作用的实验研究[J].中国应用生理学杂志,2014,30(1):68-69,73.
- [13] 丁旗,崔雅萍,梁文仪,等.藏药余甘子与诃子化学和药理作用比较[J].世界科学技术-中医药现代化,2016,18(7):1171-1176.
- [14] 郭志英,黄玉香,王国权.余甘子治疗糖尿病及其并发症的研究进展[J].海峡药学,2014,26(12):1-4.
- [15] 赖先荣,周邦华,杜明胜,等.6种黄连饮片中6种生物碱的RP-HPLC含量测定及与“治消渴”药效学的“谱-效”关系分析[J].中国中药杂志,2016,41(24):4579-4586.
- [16] 石征蓉,杨秀清,谷江华,等. HPLC-DAD波长转换法同时测定糖肾清毒颗粒中7种活性成分的含量[J].中国药房,2017,28(6):816-820.

Δ 基金项目:四川省科技支撑项目(No.2014SZ0140)
* 硕士研究生。研究方向:中药新制剂、新工艺和新技术。E-mail:572379085@qq.com
通信作者:主任中药师。研究方向:中药新制剂、新工艺和新技术。E-mail:songying624@163.com

(收稿日期:2017-07-23 修回日期:2017-08-14)
(编辑:刘柳)