

黄柏-苍术药对不同比例配伍中生物碱含量的变化^Δ

傅春升^{1*}, 王 琰¹, 李 玥², 张学顺¹(1. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011; 2. 山东中医药大学, 济南 250355)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2549-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.19

摘要 目的: 探讨中药药对黄柏-苍术不同比例配伍中生物碱含量的变化规律。方法: 采用高效液相色谱法测定黄柏-苍术药对不同比例配伍中黄柏碱、小檗碱的含量。色谱柱为 Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(梯度洗脱), 检测波长为 285 nm。结果: 黄柏碱、小檗碱的质量浓度分别在 0.020 6~0.411 2、0.021 1~0.422 0 mg/ml 范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(r 均为 0.999 7); 二者精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均 < 1%; 平均加样回收率分别为 99.39%、99.51%, RSD 分别为 1.62%、1.05% (n 均为 6)。结论: 黄柏与苍术配伍时, 其生物碱含量变化规律为随苍术的增加而减少。

关键词 药对; 黄柏; 苍术; 配伍比例; 生物碱含量

Content Change of Alkaloids in Different Compatibility Proportions of *Phellodendron chinense* and *Atractylodes lancea*

FU Chun-sheng¹, WANG Yan¹, LI Yue², ZHANG Xue-shun¹(1. The Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China; 2. Shandong University of TCM, Jinan 250355, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To explore the variation of alkaloids content in the compatibility of different proportions of *Phellodendron chinense* and *Atractylodes lancea*. METHODS: HPLC method was used to determine contents of phellodendrine and berberine in different proportions of *P. chinense* and *A. lancea*. The determination was performed on Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution). The detection wavelength was at 285 nm. RESULTS: The linear range of phellodendrine and berberine were 0.020 6-0.411 2 mg and 0.021 1-0.422 0 mg (both $r=0.999 7$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1%. Average recoveries were 99.39% (RSD=1.62%, $n=6$) and 99.51% (RSD=1.05%, $n=6$). CONCLUSIONS: With *A. lancea* increased, the content of alkaloid decreased when *P. chinense* was compatible with *A. lancea*.

KEY WORDS Drug couple; *Phellodendron chinense*; *Atractylodes lancea*; Compatibility proportion; Alkaloid content

药对是临床常用相对固定的两味或两味以上药物的配伍形式。黄柏为芸香科植物黄皮树的干燥树皮, 习称“川黄柏”, 性味苦寒, 清热燥湿; 苍术为菊科植物茅苍术或北苍术的干燥根茎^[1], 苦温燥湿。两味合用, 清热燥湿之力较强, 为治疗湿热诸症的常用药对。黄柏、苍术配伍应用已久, 最早见于元代危亦林所著《世医得效方》中, 名苍术散。其后朱丹溪所著《丹溪心法》将其命名为二妙散^[2], 其黄柏、苍术配伍比例为 1:1 (m/m)。现代临床对黄柏-苍术药对的应用广泛, 相关制剂较多。本试验从物质基础变化角度, 探讨该药对不同比例配伍中生物碱含量的变化规律。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱(HPLC)仪, 含 2996 型光电二极管阵列检测器(PAD)、717 Plus 型自动进样器、600 型控制器(美国 Waters 公司); SK5200H 型超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

Δ 基金项目: 山东省科技发展计划项目(No.2010GSF10284)

* 副主任药师, 硕士。研究方向: 中药新剂型、新工艺。电话: 0531-68617919。E-mail: yfuchunsheng@163.com

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110713-200911); 黄柏碱对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司, 纯度 ≥ 98%, 批号: must-11062401); 甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Tedia 公司), 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 药材

苍术、黄柏购自安国市祁澳中药饮片有限公司(批号: 1106605191), 经山东中医药大学附属医院张学顺教授鉴定: 苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎, 黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱(洗脱程序见表 1); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 室温; 检测波长: 285 nm。理论板数按黄柏碱峰计算应不低于 7 000, 按小檗碱峰计算应不低于 5 000; 黄柏碱和小檗碱的保留时间分别为 19.1 min 和 39.6 min, 并且与其他组分分离良好。

2.2 溶液的制备

表1 流动相梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution process of mobile phase

时间, min	乙腈, %	0.1%磷酸水溶液, %
0~25	9→22	91→78
>25~45	22→55	78→45
>45~55	55→100	45→0

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取黄柏碱、小檗碱对照品各适量,分别置于量瓶中,加甲醇溶解并稀释,分别制成质量浓度为0.411 2 mg/ml的黄柏碱对照品溶液和0.422 0 mg/ml的小檗碱对照品溶液,备用。精密吸取上述2种对照品溶液各4.5 ml,置同一10 ml量瓶中,充分混匀,加甲醇稀释并定容,即得混合对照品溶液(黄柏碱、小檗碱的质量浓度分别为0.185、0.190 mg/ml),备用。混合对照品的HPLC图见图1。

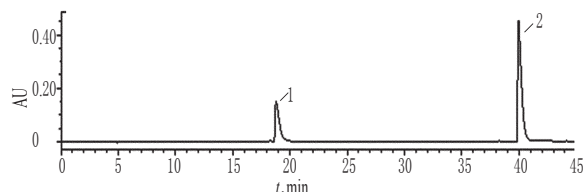


图1 混合对照品的HPLC图

1. 黄柏碱; 2. 小檗碱

Fig 1 HPLC chromatograms of mixed control

1. phellodendrine; 2. berberine

2.2.2 供试品溶液的制备 将按不同比例配伍的黄柏-苍术药对样品(黄柏均为5 g)分别置圆底烧瓶中,加10倍量水回流提取3次,每次1 h,合并3次提取液,滤过,滤液浓缩并定容至250 ml,作为供试品贮备液,备用。取各供试品贮备液10 ml,加水至100 ml,作为供试品溶液。黄柏-苍术药对(1:1, m/m)的HPLC图见图2;不同配伍比例黄柏-苍术药对的HPLC叠加图谱见图3[图3中,从上至下依次为对照图谱及黄柏-苍术药对不同配伍比例(0:1、1:3、1:2、1:1、1:0、2:1、3:1, m/m)的图谱]。

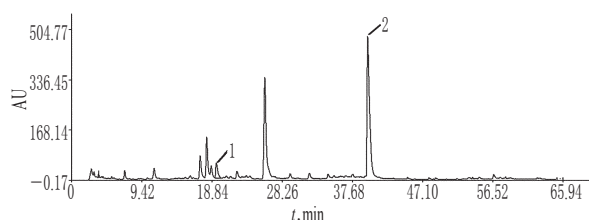


图2 黄柏-苍术药对(1:1, m/m)的HPLC图

1. 黄柏碱; 2. 小檗碱

Fig 2 HPLC chromatograms of drug couple of 1:1

1. phellodendrine; 2. berberine

2.3 线性关系考察

分别精密吸取2种对照品溶液0.5、1、2、4、8、10 ml,加甲醇稀释并定容至10 ml,吸取上述溶液各10 μl,分别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以质量浓度(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得黄柏碱和小檗碱的回归方程分别为 $y=1E+07x+85\ 694(r=0.999\ 7, n=6)$ 、 $y=6E+07x-22\ 100(r=0.999\ 7, n=6)$ 。结果表明,黄柏碱和小檗碱的质量浓度分别在0.020 6~0.411 2、0.021 1~0.422 0 mg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

取混合对照品溶液10 μl,按上述色谱条件进样测定,连续进样6次,记录峰面积。结果,黄柏碱、小檗碱的RSD分别为0.74%、0.50%(n均为6),表明仪器精密度良好。

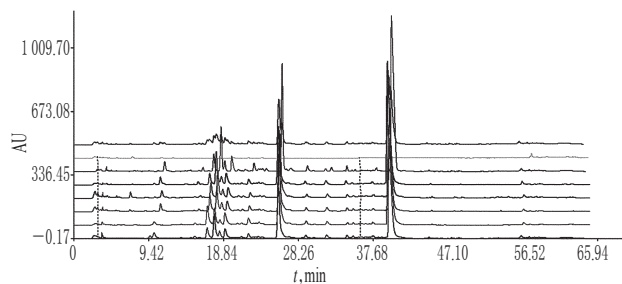


图3 不同配伍比例黄柏-苍术药对的HPLC叠加图谱

Fig 3 HPLC superposition chromatograms of the drug couple about *P. chinense* and *A. lancea* of different compatibility proportions

2.5 稳定性试验

取同一配伍比例黄柏-苍术药对(1:1, m/m)的供试品溶液10 μl,于制备后2、4、6、8、10、12 h,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,黄柏碱、小檗碱的RSD分别为0.90%、0.29%(n均为6),表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.6 重复性试验

取同一配伍比例(1:1, m/m)的黄柏、苍术饮片,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,照上述色谱条件进样10 μl,测定,记录峰面积。结果,黄柏碱、小檗碱的RSD分别为0.84%、0.62%(n均为6),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取黄柏、苍术饮片各5 g(同一配伍比例),共6份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,精密吸取10 μl注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果分别见表2、表3。

表2 黄柏碱的加样回收率试验结果(n=6)

编号	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	\bar{x} , %	RSD, %
1	黄柏5+苍术5	0.042 5	0.046 3	0.089 8	102.16		
2	黄柏5+苍术5	0.045 0	0.046 3	0.090 3	97.84		
3	黄柏5+苍术5	0.043 5	0.046 3	0.088 8	97.84	99.39	1.62
4	黄柏5+苍术5	0.041 5	0.046 3	0.087 6	99.68		
5	黄柏5+苍术5	0.044 5	0.046 3	0.090 7	99.89		
6	黄柏5+苍术5	0.044 0	0.046 3	0.089 8	98.92		

表3 小檗碱的加样回收率试验结果(n=6)

编号	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	\bar{x} , %	RSD, %
1	黄柏5+苍术5	0.122 9	0.122 0	0.244 6	99.75		
2	黄柏5+苍术5	0.122 6	0.122 0	0.242 6	98.36		
3	黄柏5+苍术5	0.123 2	0.122 0	0.246 6	101.15	99.51	1.05
4	黄柏5+苍术5	0.122 8	0.122 0	0.243 5	98.93		
5	黄柏5+苍术5	0.123 1	0.122 0	0.245 2	100.08		
6	黄柏5+苍术5	0.122 5	0.122 0	0.243 0	98.77		

2.8 样品含量测定

取按不同比例配伍的黄柏、苍术饮片适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,精密吸取10 μl注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积,计算供试品溶液中黄柏碱和小檗碱的含量,结果见表4。

3 讨论

本试验中,因苍术水煎液紫外无吸收^[3],无法得到其HPLC紫外吸收图;加之在佐剂性关节炎大鼠足肿胀的药效学实验中发现,黄柏组与黄柏-苍术不同比例配伍组的治疗效果明显

芪七连胶囊的质量标准研究^Δ

陈 壮^{1*}, 岳桂华^{2#}, 黄 敏¹, 黄小鸥¹(1.广西中医学院附属瑞康医院, 南宁 530011; 2.广西中医学院, 南宁 530001)

中图分类号 R283.65;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2551-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.20

摘要 目的:建立芪七连胶囊的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对芪七连胶囊中黄芪和三七进行定性鉴别;采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定制剂中黄芪甲苷的含量。结果:TLC定性鉴别方法专属性强,阴性对照无干扰。黄芪甲苷进样量在0.529 5~4.236 0 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD均<2%;平均加样回收率为99.34%,RSD=1.10%($n=6$)。结论:所建标准可用于芪七连胶囊的质量控制。

关键词 芪七连胶囊;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱-蒸发光散射检测器法;黄芪甲苷;黄芪;三七

Study on Quality Standard of Qiqilian Capsule

CHEN Zhuang¹, YUE Gui-hua², HUANG Min¹, HUANG Xiao-ou¹(1.The Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medical College, Nanning 530011, China; 2.Guangxi Traditional Chinese Medical College, Nanning 530001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Qiqilian capsule. METHODS: TLC was used to identify Astragalus Radix and *Panax notoginseng*. A HPLC-ELSD was used to measure the content of astragaloside IV in Qiqilian capsule. RESULTS: The qualitative identifications with TLC were specific without interference from negative control. The linear range of astragaloside IV were 0.529 5-4.236 0 μg ($r=0.999\ 7$) with average recovery of 99.34% (RSD=1.10%, $n=6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: Established standard can be adopted for the quality control of Qiqilian capsule.

KEY WORDS Qiqilian capsule; Quality standard; TLC; HPLC-ELSD; Astragaloside IV; Astragalus Radix; *Panax notoginseng*

表4 不同配伍比例的样品含量测定结果

Tab 4 Results of content determination of samples with different compatibility proportions

称样量, g		生物碱含量, mg	
黄柏	苍术	黄柏碱	小檗碱
5	0	0.116	0.418 0
5	1.66	0.108	0.373 8
5	2.5	0.105	0.344 8
5	5	0.085	0.245 7
5	10	0.092	0.233 0
5	15	0.091	0.223 2
0	5	0	0

优于苍术组,故选择以黄柏为主要参考对象(药对中黄柏均为5 g),考察黄柏-苍术药对中生物碱含量的变化规律。

黄柏碱为黄柏的特征成分,尚未发现易混淆药材也含有该成分,因此在检测小檗碱的同时增加黄柏碱的检测,更能有效、专属地评价黄柏及其复方制剂的质量^[4]。小檗碱在220、265、345 nm波长处均有较大吸收,但此波长下黄柏碱没有吸

Δ 基金项目:广西壮族自治区中医药管理局中医药科技专项资助课题(No.GZY1109);广西科学研究与技术开发计划项目(No.桂科攻0993003A-15)

* 副主任药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:0771-2188262。E-mail:chzh511@163.com

通信作者:教授,主任医师,博士。研究方向:中医内科学。E-mail:sdygh1969@163.com

收,而在285 nm波长处两者均有较大吸收,故选取285 nm为最终检测波长。

有资料显示,黄柏、苍术的配伍比例多集中在1:1~1:3(m/m)之间^[5]。结合临床应用及文献资料,本课题组最终选择黄柏-苍术药对以下述比例:3:1、2:1、1:1、1:0、0:1、1:2、1:3(m/m)为研究对象。

本试验选择以黄柏的质量为固定值,考察不同质量的苍术对黄柏有效成分(黄柏碱和小檗碱)煎出量的影响,发现随着苍术质量的增加,黄柏中有效成分的煎出量逐渐减少。这可能与苍术中的有效成分影响了生物碱的溶出有关,具体机制尚待进一步研究。

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,2010:150-151,286-287.
- [2] 王绪前.二妙散使用沿革[J].湖北中医学院学报,1999,1(1):25.
- [3] 王鸣,肖超成,陈雨,等.不同产地茅苍术水溶性成分的HPLC指纹图谱研究[J].植物资源与环境学报,2009,18(1):12.
- [4] 祝晨,林朝展,莫建霞.HPLC法测定黄柏药材中小檗碱与黄柏碱的含量[J].中国新药与临床药理,2004,15(4):262.
- [5] 聂桂宁.二妙散加味临床治验举隅[J].广西中医学院学报,2007,10(2):14.

(收稿日期:2012-11-12 修回日期:2013-05-02)