

RP-HPLC 法测定黄连及酒黄连中 3 种生物碱的含量

★ 罗小泉¹ 吴国庆² 河海峰¹ (1. 江西中医学院 南昌 330006; 2. 江西中医学院附属医院 南昌 330006)

摘要:目的:探索高效液相色谱法测定黄连及经过不同酒制方式后黄连中生物碱含量的方法。方法:色谱柱为 C₁₈ 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相为乙腈:0.05 mol/L 磷酸二氢钾(28:72, 并用磷酸调 pH 为 3.0), 检测波长为 345 nm。结论:在此色谱条件下, 小檗碱、巴马亭、和药根碱分离效果好; 方法灵敏度高, 重现性好。可用于黄连等含小檗碱型生物碱中药材及制剂的质量控制。

关键词:反相高效液相色谱法; 黄连; 酒黄连; 生物碱; 含量测定

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

酒黄连有酒炒、酒蒸、酒煮、酒洗等不同, 在《银海精微》、《珍珠囊》、《普济方》、《本草求真》、《得配本草》等书中有记载。酒制升提, 用酒炮制黄连, 能使黄连长于上行, 清上焦热邪。但由于酒制方式不同, 作用也有所区别: (1) 酒炒长于清上焦热, 如《医宗粹言》谓: “酒炒去头目之火。” (2) 酒蒸长于治消渴, 如《本草求真》谓“治消渴, 用酒蒸黄连”。 (3) 酒煮长于治伏暑, 本《本草求真》谓“治伏暑, 用酒煮黄连”等。此外, 酒制黄连还可缓和黄连的苦寒之性^[1]。不同酒制方式, 功效何以有别, 本文对不同酒制方式黄连中 3 种主要生物碱的含量作了对比研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Dionex MltiMate3000 液相色谱仪, PDA-3000 二极管阵列紫外检测, Chromeleon 工作站, 天平(瑞士 METFLER), Sartorius 万分之一电子天平(德国赛多利斯), Raynger ST 型红外测温仪(美国 Raytek), RE52CS 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 试药

黄连(购于樟树药材市场, 经本院中药鉴定教研室刘庆华老师鉴定为毛茛科植物味连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根)。

盐酸小檗碱(Berberine hydro-chloride)、盐酸巴马亭(Palmatinehydrochloride)、盐酸药根碱(Jatrorrhizine hydrochloride)均购自中国药品生物制品检定

所。

黄酒(绍兴县东江有限公司)试验使用甲醇、乙腈为色谱纯, 磷酸二氢钾为分析纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药材的炮制及溶液的制备

2.1.1 生黄连 取原药材, 去除杂质, 润透后切成片, 晾干^[2]。

2.1.2 酒黄连的炮制 (1) 酒炒黄连: 取净切片黄连。酒炙法炒干, 每 1 kg 黄连用黄酒 0.125 kg^[2]。(2) 酒煮黄连 取净制黄连, 大小分档, 加黄酒适量, 黄酒淹过药面, 煮至酒被吸尽, 取出, 晾干。(3) 酒蒸黄连 取净制黄连适量, 大小分档, 置笼屉内, 用黄酒蒸制 1.5 小时, 取出, 晾干。

2.1.3 对照品溶液的制备 分别精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马亭、盐酸药根碱对照品 13.32、3.1、4.99 mg, 分别置 50 ml 容量瓶中, 加甲醇-盐酸(100:1)溶解并稀释至刻度, 作为标准储备液, 分别精密吸取标准储备液各 15 ml, 置同一 50 ml 容量瓶中, 稀释至刻度, 做为混合对照品溶液。

2.1.4 供试品溶液的制备 精密称取生黄连及黄连的不同酒制品粉末约 1 g(过三号筛), 置于具塞锥形瓶中, 加甲醇-盐酸(100:1)50 ml, 称定重量, 静置 30 分钟后, 连接冷凝管, 加热至沸腾, 并保持微沸 1 小时, 再超声 30 分钟, 放冷, 用混合溶剂补足减失的得量, 摇匀, 备用。

取上提取液 2 ml, 置于 25 ml 容量瓶中, 加入混合溶剂定容, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续

滤液,即得。

2.2 色谱条件

色谱柱: C_{18} 分析柱 (4.6 mm × 200 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.05 mol 磷酸二氢钾溶液 (28:72) 磷酸调节 pH 为 3.0; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 345 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算不低于 5 000。

2.3 主要化学成分含量测定

2.3.1 精密密度试验 精密吸取生黄连供试品溶液 10 μ l, 连续进样 5 次, 测定各组分的峰面积值, 计算得盐酸小檗碱、盐酸巴马亭和盐酸药根碱峰面积的 RSD 分别为 0.42%、0.10%、0.17%。

2.3.2 重复性试验 取生黄连细粉, 按 2.1.3 项下制备供试品溶液方法平行制备 5 份供试液, 在上述色谱条件下进行含量测定。计算得 5 份样品中盐酸小檗碱、盐酸巴马亭和盐酸药根碱含量的 RSD 分别为 0.28%、0.16%、0.19%, 结果表现重现性良好。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取生黄连供试品溶液 10 μ l, 分别于 0、2、4、6、8、12 小时进样, 测定各组分的峰面积值, 计算得盐酸小檗碱、盐酸巴马亭和盐酸药根碱峰面积的 RSD 分别为 0.99%、0.89%、0.92%, 结果表明, 供试品溶液在 12 小时内基本稳定。

2.3.4 加样回收试验 分别取 5 份已测知这 3 种生物碱含量的黄连药材各约 30 mg, 精密称定, 分别精密加入对照品溶液 (含盐酸小檗碱 2.04 mg、盐酸巴马亭 0.52 mg、盐酸药根碱 0.16 mg), 按供试液制备和含量测定方法操作, 结果该法测定黄连药材中的小檗碱、巴马亭、药根碱, 回收率分别为 98.1% ($RSD = 0.44\%$, $n = 5$)、98.0% ($RSD = 0.6\%$, $n = 5$)、

99.9% ($RSD = 0.75\%$, $n = 5$)。

2.3.5 样品含量测定 按上述供试品溶液的制备方法和测定条件, 测定不同酒制方式所得的样品, 结果见表 1。

表 1 黄连及其酒制品的含量测定 ($n = 3$)

样品	盐酸小檗碱 (%)	盐酸巴马亭 (%)	盐酸药根碱 (%)	总碱 (%)
生黄连	6.75	0.53	1.72	9.00
酒炒黄连	7.74	0.55	1.90	10.19
酒蒸黄连	8.03	0.76	1.99	10.78
酒煮黄连	6.43	0.49	1.57	8.44

由表 1 可见, 黄连生品中 3 种生物碱含量较酒炒, 酒蒸低, 但比酒煮的高, 表明不同的酒制方式对其含量有所影响。

3 讨论

研究结果表明, 黄连经不同酒制方式炮制后 3 种生物碱含量有不同程度的变化, 其中酒炒和酒蒸后含量均比生品的高, 而酒煮后比生品低, 酒制黄连能使成分溶出更有利, 但酒煮在高温条件下, 可能有部分生物碱溶解在酒里随蒸汽而损失掉, 要根据临床实际需要来选择不同的炮制方式, 更好地为临床服务。

本试验建立了黄连药材及其酒制品简便快速准确的含量测定方法, 为黄连炮制机理的研究及黄连饮片质量标准化奠定基础。

参考文献

- [1] 郑虎占. 中药饮片应用标准化研究 [M]. 北京: 学苑出版社, 2004: 1, 110.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 21.

(收稿日期: 2009-11-20 责任编辑: 曹征)

新专栏征稿

《江西中医学院学报》(双月刊)已全面改版, 以下重点栏目面向全国征稿:

● **理论研究** 对中医重大理论问题进行专题论述。讨论专题有: 中医水理论研究、火理论研究、体质学说研究、梦理论研究、病证理论研究。

● **百家争鸣** 旨在打破中医学术界的沉闷局面, 对中医药事业发展的重大问题展开讨论争鸣。争鸣要求坚持良好的学术道德, 敢说真话, 敢亮观点。争鸣的主要内容有: 中医教育反思、中医科研走向、中医发展前景、中西医结合前景、新时期中医的生存模式等。

● **中医文化研究** 主要反映中医与古代哲学、古代社会政治经济、人文地理等文化形态的研究成果以及五运六气研究、生命学说研究的最新动态。

● **道教医学研究** 包括道教医药文献研究、道教医药人物研究、道教医药史研究、道教医学理论研究、道教医学方药研究、道教医学养生研究等, 要求观点正确, 不违背国家宗教政策。

欢迎广大作者踊跃投稿。