

后的理论值较接近,与其他提取方案结果相比占优。最终得到菟丝子最优 SBE 提取工艺参数为:三煎用水 pH 依次为 2.0, 6.5, 9.0; 三煎总计时间为 2 h。说明通过均匀设计试验和回归分析,建立的主要指标回归模型具有较高的精确度和显著性,且通过回归模型和等值线的直观分析,利于求得最佳工艺参数,可作为优化本类提取工艺的分析手段,为其他相关提取工艺提供参考。

SBE 法是从生物药剂学的角度模仿口服药物在胃肠道的转运过程的一项提取技术,得到含药理指标高的活性混体成分。各种研究表明半仿生法可以提取和保留更多的有效成分。菟丝子由于其质地坚硬较难粉碎,故多炮制入药利于有效成分的溶出,如中国药典 2005 年版收载的盐炙炮制方法为主流炮制工艺,那么炮制前后经 SBE 法提取活性混合物含

量是否有差别需进一步研究,并且炮制前后在人体内活性物质的具体吸收过程及药效也有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3.
- [2] 郭洪祝, 李家实. 南方菟丝子化学成分研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2000, 23(3): 20.
- [3] 叶敏, 阎玉凝. 菟丝子药理研究进展 [J]. 北京中医药大学学报, 2000, 23(5): 52.
- [4] Zhang ZW, Sun XM. Grey thinking mode and semi-bionic extraction method [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2006, 37(9): 329.
- [5] 孙秀梅, 张兆旺, 郭婕, 等. 黄精不同炮制品半仿生提取液与水提取液成分的比较 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1648-1651.
- [6] 田树革, 周晓英, 肖新芳, 等. 菟丝子及不同炮制品中有效成分含量的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2001, 24(1): 68-70.

收稿日期 2010-07-09

民族药黑果小檗根的质量控制

赵翡翠, 李伟 (新疆医科大学附属中医医院药学部, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的: 建立黑果小檗根的质量控制标准, 为药用植物资源的开发利用提供科学依据。方法: 薄层色谱法、水分测定法、灰分测定法及 HPLC 法。结果: 以盐酸小檗碱和盐酸药根碱为对照品, 确定了黑果小檗根药材的薄层色谱鉴别方法、检查项测定了黑果小檗根的水分、灰分、酸不溶性灰分; 同时暂定其活性成分盐酸小檗碱含量不得少 0.60%。结论: 通过研究制定了黑果小檗根药材的质量控制标准。

关键词 黑果小檗根; 质量控制; 盐酸小檗碱

中图分类号 R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-5213(2011)10-0816-03

Quality control of national drug root of *Berberis heteropoda*

ZHAO Fei-cui, LI Wei (Affiliated Traditional Chinese Medical Hospital, Medical University, Xinjiang Urumqi 830000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To provide scientific basis for the utilization and development of *Berberis heteropoda* by setting up the quality control specification of the root of *Berberis heteropoda*. **METHODS** TLC moisture and ash were determined by aquametry and method of ash determination; and the bioactive constituents were analyzed by HPLC. **RESULTS** The contents of TLC, moisture, total ash, acid-insoluble ash of *Berberis heteropoda* root samples were determined. The quantitative analysis of berberine hydrochloride was performed and it should not be less than 0.60%. **CONCLUSION** The established method can be used for the quality control of the root of *Berberis heteropoda*.

KEY WORDS: *Berberis heteropoda* root; quality control; berberine hydrochloride

黑果小檗根来源于小檗科植物黑果小檗 *Berberis heteropoda* Schrenk 的干燥根。本品为新疆维吾尔医习用药材, 在新疆地区资源较丰富, 民间应用广泛。黑果小檗的果实维吾尔医称“小檗果”, 其药材标准

收于《新疆药品标准·维吾尔药材标准上册》。据《维吾尔药志》记载, 黑果小檗根性味苦、寒, 清热燥湿, 泻火解毒; 用于湿热泻痢、黄疸、湿疹、咽痛目赤、肝硬化腹水、泌尿系统感染、急性肾炎、扁桃体炎、口

基金项目 新疆维吾尔自治区科学研究与技术开发(含攻关)计划项目(编号: 200633127) **作者简介** 赵翡翠, 女, 硕士, 副主任中药师, 电话: 0991-5814127, E-mail: zzzfcc@126.com **通讯作者** 李伟, 男, 主管中药师, 电话: 0991-5814127, E-mail: zzzfcczy@sina.com

腔炎、支气管肺炎、结膜炎、痈肿疮疖等病证,在临床上应用广泛。黑果小檗根目前尚无法定质量标准,并且黑果小檗根与黑果小檗果实药用部位、性味、功效和作用均不相同,故不可沿用黑果小檗果质量标准,目前也尚未见黑果小檗根质量研究的相关文献报道。为保证黑果小檗根药材质量,笔者在进行“新疆药材标准及饮片炮制规范”研究中,对黑果小檗根的质量标准进行研究,并建立其质量控制标准。

1 材料

Waters2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);YOKO—ZS 紫外线分析摄影仪(武汉药科新技术开发公司);YOKO—DF 薄层电动涂敷器(武汉药科新技术开发公司);ZF—I 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂);盐酸小檗碱对照品、盐酸巴马汀、盐酸药根碱(中国生物制品检定所,批号 110713-200609,110732-200506,110733-200005);水为纯化水;试剂均为分析纯;黑果小檗根样品分别于 2007—2008 年采自新疆乌鲁木齐沙尔巴克乡、托里乡、庙儿沟乡等不同产地,经新疆医科大学附属医院中药鉴定室李永和主任药师鉴定均为小檗科植物黑果小檗 *Berberis heteropoda* Schrenk 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 来源 本品为小檗科植物黑果小檗 *Berberis heteropoda* Schrenk 的干燥根。新疆地区分布的还有同属植物喀什小檗 *Berberis kaschgarica* Rupr.、西伯利亚小檗 *Berberis sibirica* Pall.、红果小檗 *Berberis nummularia* Bge.、小檗 *Berberis amurensis* Rupr.。喀什小檗、西伯利亚小檗花单生或 2~5 朵簇生于叶腋,喀什小檗果为蓝黑色,叶狭窄,匙形,基部楔形,枝刺长于叶,西伯利亚小檗果为红色,叶长圆形,基部渐窄,枝刺短于叶;小檗和红果小檗、黑果小檗花成总状花序,小檗叶缘具密生的细锯齿,果鲜红色,红果小檗叶全缘或具疏刺,果红色,果实较小,直径 0.5~0.6 cm,种子表面无皱纹,黑果小檗则果实紫黑色,果实较大,直径 1.2 cm,种子表面有皱纹,容易区分。

2.2 薄层色谱鉴别 小檗属植物根的生物碱中主要有小檗碱、巴马汀、药根碱、小檗胺古伦胺碱、氧化小檗碱等^[1]。鉴别试验为小檗根的主要有效成分小檗碱、药根碱的薄层色谱鉴别。(1)取本品 0.05, 0.1 g 各 2 份,分别加甲醇 5, 10 mL,加热回流提取 15, 30 min,滤过,滤液浓缩至约 1 mL,作为供试品溶液。(2)取本品 0.05, 0.1 g 各 2 份,分别加甲醇 5, 10 mL,超声处理 15, 30 min,滤过,滤液浓缩至约 1 mL,作为供试品溶液。(3)另取盐酸小檗碱对照品、

盐酸药根碱对照品,分别加甲醇制成每 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法^[2]试验,吸取上述供试品溶液 2 μ L 和对照品溶液各 1 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-醋酸乙酯-异丙醇-甲醇-氨水(6:3:1.5:1.5:0.8)为展开剂,置氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外灯光(365 nm)下检视。检测不同产地的 3 批黑果小檗根药材供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,薄层色谱图斑点分离清晰,重复性好,结果见图 1。



图 1 黑果小檗根样品薄层色谱图

1-盐酸小檗碱对照品;2-盐酸巴马汀对照品;3-盐酸药根碱对照品;4~6-3 个不同产地黑果小檗根样品

Fig 1 TLC of the root of *Berberis heteropoda*

1-berberine hydrochloride; 2-palmatine hydrochloride; 3-jatrorrhizine hydrochloride; 4-6-root of *Berberis heteropoda*

2.3 检查^[3] 水分测定法、总灰分测定法、酸不溶性灰分法测定结果见表 1。

表 1 水分、总灰分、酸不溶性灰分测定结果

Tab 1 Determination of moisture, total ashes, acid-insoluble ashes, and active constituent

采集时间	质量分数/%		
	水分	总灰分	酸不溶性灰分
20070424	12.5	2.19	1.00
20070531	11.9	2.06	0.38
20080605	13.2	0.95	0.12
20080605 心材	12.1	1.90	0.41
20080605 根皮	11.6	2.32	0.37

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱: Symmetry shield Rp C₁₈ (3.9 mm × 150 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(50:50)(每 100 mL 加十二烷基磺酸钠 0.1 g); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 265 nm。理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 4 000。

2.4.2 溶液的制备

(1)对照品溶液 精密称取在 100 °C 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品适量,加流动相制成每 mL 含 20 μ g 的溶液,即得。

(2) 供试品溶液 取本品粉末(过 3 号筛) 0.1 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加流动相 80 mL,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 40 min,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4.3 线性关系考察与标准曲线绘制 精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液($48.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 2,4,6,8,10,12 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,精密吸取各 10 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,以峰面积的积分值为纵坐标(Y),对照品溶液的质量浓度为横浓度(X),绘制标准曲线。得回归方程为: $Y = 56387X + 7163.6$, $r = 0.9996$ 。结果表明,盐酸小檗碱在 $3.88 \sim 23.26 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.4 精密度试验 精密称取本品(批号 20080605) 0.1 g 按以上方法制成供试品溶液,连续进样 5 次,结果盐酸小檗碱峰面积的 RSD 为 2.11%。

2.4.5 稳定性试验 精密吸取当日配制的供试品溶液(批号 20080605) 于 0,1,6,12,24 h 依法测定,结果盐酸小檗碱峰面积的 RSD 为 1.83%。

2.4.6 重复性试验 精密称取本品 5 份,进行测定, RSD 2.29%,结果表明重复性良好。

2.4.7 加样回收率试验 采用加样回收率法,称取已知量样品(批号 20080605),分别定量加入盐酸小檗碱对照品,依法测定,结果见表 2。结果表明本方法回收率较好。

表 2 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 2 Results of recovery test($n=9$)

样品量 / μg	加入对照品 量/ μg	测定量 / μg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
16.13	7.75	23.85	99.81		
16.13	7.75	23.79	99.44		
16.13	7.75	23.87	99.94		
16.13	15.50	31.60	99.81		
16.13	15.50	31.57	99.63	99.70	1.62
16.13	15.50	31.58	99.69		
16.13	23.26	39.34	99.69		
16.13	23.26	39.33	99.63		
16.13	23.26	39.38	99.94		

2.4.8 定量测定结果 分别取不同时间采集、不同产地的样品制备供试品溶液,依法测定峰面积,根据标准曲线计算样品中盐酸小檗碱的量,定量测定结果见表 3, HPLC 色谱图见图 2。

根据小檗碱含量测定结果,规定黑果小檗根中

盐酸小檗碱含量最低不得低于 0.60%。

表 3 黑果小檗根中盐酸小檗碱含量测定结果($n=5$)

Tab 3 Determination of content of berberine hydrochloride in the root of *Berberis heteropoda*($n=5$)

采集地点	采集时间	盐酸小檗碱/%
乌鲁木齐县沙尔巴克乡	20070424	1.61
乌鲁木齐县庙尔沟乡	20070531	1.08
乌鲁木齐县托里乡	20080605	1.09
乌鲁木齐县托里乡-心材	20080605	0.59
乌鲁木齐县托里乡-根皮	20080605	1.82

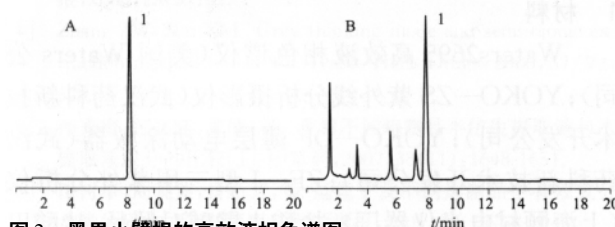


图 2 黑果小檗根的高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; 1-盐酸小檗碱

Fig 2 Chromatograms of the root of *Berberis heteropoda*

A. reference substance; B. sample; 1-berberine hydrochloride

3 讨论

本实验对黑果小檗根薄层鉴别方法中的展开剂、显色方式等色谱条件进行考察,结果可同时鉴别出黑果小檗根中盐酸小檗碱和盐酸药根碱 2 种成分,且方法操作简便,专属性强。由于盐酸巴马汀与盐酸小檗碱化学极性相近,虽经多次试验,分离效果仍不很理想,故黑果小檗根薄层色谱鉴别方法中仅以盐酸小檗碱和盐酸药根碱为对照品列入质量标准,应在今后研究中进一步调整薄层色谱方法,以得到 3 种成分较好的分离效果。

小檗属植物的主要有效成分为小檗碱、巴马汀、药根碱、氧化小檗碱等^[1],但其中以盐酸小檗碱含量最高,且测定方法成熟、操作简便,对于控制黑果小檗碱质量有较大意义,本实验建立的测定黑果小檗根中盐酸小檗碱含量的方法,该法准确、重复性好,可用于评价黑果小檗根药材的质量。同时,盐酸小檗碱含量测定结果表明,盐酸小檗碱在黑果小檗根皮中含量较高,而心材中含量较低,为保证黑果小檗根药材质量,黑果小檗根中小檗碱含量最低不得低于 0.60%。

参考文献:

- [1] 邱多隆,王勤,马志刚. 三颗针植物中生物碱分布状态的研究[J]. 中药材, 2004, 27(2): 83.
- [2] 中国药典. 一部 [S]. 2005: 213, 214, 附录 34, 52, 53.

收稿日期 2010-04-27