

煮时间和次数)均一致,以保证关木通配伍前、后马兜铃酸 A 含量变化的可比性。

马兜铃酸的提取方法有氨水冷浸后用有机溶剂提取、超声提取和甲醇索氏提取^[5]等,这些方法能有效地提取关木通中的马兜铃酸,但文中的样品均为水煎液,先碱化氯仿除杂,然后酸化用氯仿萃取,这样可去除较多杂质干扰。回收率试验表明,该法对马兜铃酸 A 的提取效率较高,选择性较强,重复性较好,可满足分析要求。

关木通在中国有悠久的用药历史和坚实的临床基础,常配伍使用,几乎不单独应用。因此,文中考察了关木通配伍前、后马兜铃酸 A 煎出量的变化,结果表明,复方配伍的龙胆泻肝汤中马兜铃酸 A 的煎出量较关木通药材单煎液明显降低,从一个侧面

说明了复方配伍理论的合理性。

参考文献:

[1] 王立,王亚平,同生志.超大量煎服关木通致肾功能衰竭 1例 [J].中国中药杂志, 2002, 27(9): 710.
[2] 丁英钧,王彦田,李春香,等.关木通与其复方肾毒性比较及相关毒性成分测定 [J].中国药理学通报, 2004, 20(9): 1079- 1080
[3] 陈盐生,肖晨栋.薄层扫描法测定清淋冲剂中马兜铃酸的含量 [J].华西药学杂志, 2000 15(3): 236.
[4] 张兰桐,崔晓红,袁志芳,等. RP-HPLC 法测定中药材及制剂中马兜铃酸 A 的含量 [J].药物分析杂志, 2003, 23(3): 215- 218
[5] 尚明英,李军,胡波.中药关木通中总马兜铃酸的含量测定 [J].中草药, 2000, 31(12): 899- 900.

收稿日期: 2005- 12

尿炎清片的鉴别及盐酸小檗碱的含量测定

李 嘉,邓治旭,黄建猷,龙杰超

(广西中医药研究所,广西 南宁 530022)

摘要: 目的 鉴别尿炎清片并测定盐酸小檗碱的含量。方法 采用 TLC法对处方中黄柏、广金钱草、泽泻进行定性鉴别;采用 HPLC法测定片剂中盐酸小檗碱的含量。结果 在薄层色谱中可检出黄柏、广金钱草、泽泻;盐酸小檗碱在 39. 28~ 78. 56 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r= 0. 9999$),平均加样回收率为 98. 3%, $RSD = 1. 87\%$ ($n= 5$)。结论 所建方法简便、准确、可靠,可用于该制剂的质量控制。

关键词: 尿炎清片; 盐酸小檗碱; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2007) 01- 0095- 03

Identification and quantitative detemination of berberine hydrochloride of Niaoyanqing tablet

LI Jia DENG Zhi- xu HUANG Jian- you LONG Jie - chao

(Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China)

Abstract **OBJECTIVE** To identify and determine of berberine hydrochloride of Niaoyanqing tablet **METHODS** The TLC and HPLC methods were adopted **RESULTS** *Cortex Phellodendri*, *Herba Desmodii Styracifolii* and *Rhizoma Alismatis* were identified by TLC. The content of berberine hydrochloride in Niaoyanqing tablet was determined by HPLC. berberine hydrochloride showed a good linear relationship in the range of 39. 28- 78. 56 μg ($r= 0. 9999$). The average recovery rate was 98. 3% with RSD of 1. 87% ($n= 6$). **CONCLUSION** The established methods are simple, accurate, reliable and can be used for the quality control of Niaoyanqing tablet

Key words Niaoyanqing tablet, Berberine hydrochloride, TLC, HPLC

CLC number R927

Document code A

Article ID 1006- 0103(2007) 01- 0095- 03

尿炎清片是新研制的中药新药,由黄柏、广金钱草、车前子、泽泻等中药组成,具有清热除湿、利尿通

淋之功效,用于治疗尿路感染、泌尿系统结石等症。按中药新药研究规范,根据药材的理化性质,采用

TCL法对方中黄柏、广金钱草、泽泻进行定性鉴别,并用 HPLC 法对制剂中君药黄柏进行定量,建立了可靠、准确、专属性较强的质量控制方法。

1 实验部分

1.1 仪器和材料

LC-10A 色谱仪包括 UV-10A 紫外检测器(日本岛津公司)。盐酸小檗碱对照品、黄柏、广金钱草、泽泻对照药材(中国药品生物制品检定所);尿炎清片及各被检药材的阴性制剂(自制);甲醇为色谱纯;水为双蒸水;其余试剂均为分析纯。

1.2 薄层鉴别

1.2.1 黄柏的鉴别 取本品 2 片,除去包衣,研细,加甲醇 10 ml 置水浴上加热回流 30 min 过滤,滤液作为样品溶液。取缺黄柏的阴性制剂 2 片,同法制成阴性样品溶液。另取黄柏对照药材 0.1 g 加甲醇 10 ml 同法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 2 μl 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨水(6:3:1.5:1.5:0.5)为展开剂,置氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置 365 nm 紫外灯下检视。样品色谱中,在与对照药材相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;与对照品色谱相应的位置上,显相同的黄色荧光斑点,而阴性无干扰(图 1A)。

1.2.2 广金钱草的鉴别 取本品 30 片,除去包衣,研细,加乙醇 50 ml 加热回流 30 min 过滤,滤液蒸干,残渣加热水 30 ml 溶解,放冷,过滤,滤液加乙酸乙酯提取(30 ml $\times$ 2),合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加无水乙醇 1 ml 使溶解,作为样品溶液。取缺广金钱草的阴性制剂 30 片,同法制成阴性对照溶液。另取广金钱草对照药材 5 g 同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μl 分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(7.5:2.4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,热风烘干后置 365 nm 紫外灯下检视。样品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,而阴性无干扰(图 1B)。

1.2.3 泽泻的鉴别 取本品 30 片,除去包衣,研细,加乙酸乙酯 50 ml 加热回流 30 min 过滤,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 ml 使溶解,作为样品溶液。取缺泽泻的阴性制剂 30 片,同法制成阴性对照溶液。另取泽泻对照药材 5 g 同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μl 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(9:5:1)

为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇液,105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,而阴性无干扰(图 1C)。

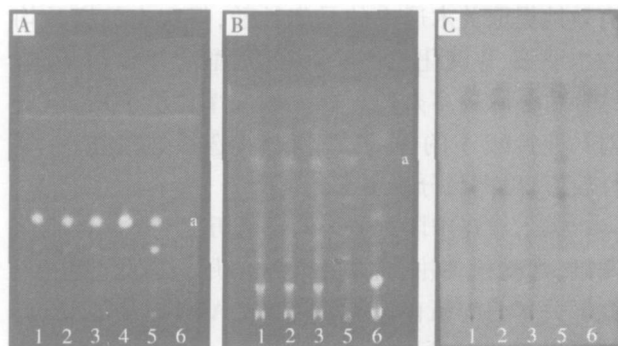


图 1 黄柏(A)、广金钱草(B)和泽泻(C)的 TLC 图谱

Fig 1 TLC chromatograms of Cortex Phellodendri (A), Herba Desmodii Styracifolii (B) and Rhizoma Alismatis (C)

1-3. sample 4 Berberine hydrochloride 5. control of crude drug 6. negative sample

1.3 含量测定

1.3.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱为 Li-chrospher C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.4% 磷酸溶液(28:72); 流速 $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长 265 nm。理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 4×10^3 。色谱图见图 2。

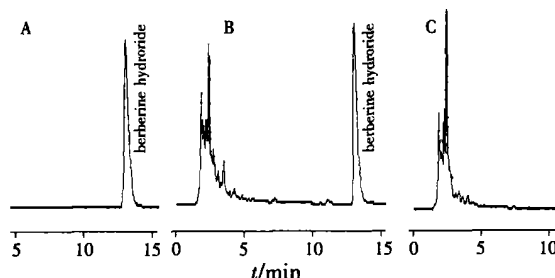


图 2 对照品(A)、尿炎清片(B)及阴性对照(C)溶液的色谱图

Fig 2 Chromatograms of Berberine hydrochloride solution (A), Niaoyanqing tablet solution (B) and blank solution (C)

1.3.2 溶液的制备 精密称取在 100℃干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品适量,加流动相制成 $60 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的对照品溶液。取样品 20 片,除去包衣,精密称定,研细,精密称取 0.4 g 置 100 ml 量瓶中,加流动相 60 ml 超声处理 20 min,放冷,用流动相定容,摇匀,过滤,取续滤液作为样品溶液。取缺黄柏的阴性样品,按样品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

1.3.3 线性关系考察 精密称取盐酸小檗碱对照品 9.82 mg 置 100 ml 量瓶中,加流动相定容,制成 $98.2 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 对照品贮备液。精密吸取该溶液 4.5、6.7、8 ml 分别置 10 ml 量瓶中,加流动相定容,摇

匀,作为对照品溶液。精密吸取上述溶液各 10 μl 分别进样,测定其峰面积,以溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归。盐酸小檗碱的回归方程为: $Y = 2\,698 \times 10^{-4}X - 3\,683 \times 10^{-4}$ ($r = 0.9999$)。盐酸小檗碱在 39.28~78.56 μg 范围内,线性关系良好。

1.3.4 精密度的试验 精密吸取 58.92 μg·mL⁻¹盐酸小檗碱对照品溶液 10 μl 连续进样 5 次,测定盐酸小檗碱峰的峰面积,其峰面积值的 $RSD = 0.32\%$ 。

1.3.5 稳定性试验 精密吸取同一批号的样品溶液,在“1.3.1”项色谱条件下,于 0.2、4、6、12、24 h 测定峰面积,盐酸小檗碱峰面积的 $RSD = 0.24\%$,表明样品溶液在 24 h 内基本稳定。

1.3.6 重复性试验 取同一批号的样品 6 份,按“1.3.2”项下方法制备样品溶液,按“1.3.1”项条件测定。结果,盐酸小檗碱的平均含量为每片 5.76 mg $RSD = 0.48\%$ 。

1.3.7 回收率试验 取已测知含量的样品 5 份,每份约 0.2 g 精密称定,加入 3.5 mL 0.843 mg·mL⁻¹盐酸小檗碱对照品溶液,按“1.3.2”项下方法制备样品溶液,在“1.3.1”项色谱条件下,测定盐酸小檗碱的峰面积,盐酸小檗碱的平均回收率为 98.3%, $RSD = 1.87\%$ (表 1)。

表 1 加样回收率的测定结果 (mg n= 5)

Table 1 Results of recovery test(mg n= 5)					
Original	Added	Detected	Recovery %	$\bar{X}$ %	RSD %
2.952	2.951	5.883	99.3	98.3	1.87
3.085	2.951	6.067	101.1		
2.970	2.951	5.841	97.3		
3.004	2.951	5.867	97.0		
2.961	2.951	5.817	96.8		

1.3.8 样品含量测定 取样品 5 批,按“1.3.2”项下方法制备样品溶液,在“1.3.1”项色谱条件下测定,结果 5 批样品每片的含量分别为 4.75、6.31、5.70、5.93、5.76 mg。

2 讨论

参考文献^[1~3],曾试用甲醇-乙腈-0.02 mol·L⁻¹磷酸水溶液、乙腈-水(1:1)含磷酸二氢钾 3.4 g 及十二烷基硫酸钠 1.7 g 乙腈-0.4% 磷酸溶液、0.02 mol·L⁻¹磷酸二氢钾-乙腈的不同配比,摸索色谱的最佳测定条件。结果表明,选用乙腈-0.4% 磷酸溶液(28:72),盐酸小檗碱出峰时间适宜(t_R 13.12 min),与其他共存成分分离度大于 1.5 达到基线分离,且阴性无干扰,专属性强。盐酸小檗碱在 345、265 nm 处均有吸收,经对样品和盐酸小檗碱对照品进行紫外扫描,结果最大吸收波长为 265 nm,故选定 265 nm 为检测波长。

文中方法操作简便、准确、可靠,可用于该制剂的质量控制。

参考文献:

[1] 彭艳梅,黄松林. 两种方法对黄柏各部位小檗碱含量测定[J]. 中草药, 1997, 28(10): 599-610

[2] 唐艳梅,叶萌,向丽,等. HPLC 测定黄柏中的盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸药根碱[J]. 华西药理学杂志, 2006, 21(3): 265-267.

[3] 王春明,许丽杰,黄庆柏. HPLC 法测定静灵口服液中盐酸小檗碱的含量[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(4): 38.

收稿日期: 2005- 12

《实用药物与临床》2007年征订征稿启事

《实用药物与临床》杂志原名《辽宁药物与临床》创刊于 1998 年,是由辽宁省药学会和中国医科大学第二临床学院共同主办的、国内外公开发行的综合性学术刊物。CN21-1516/R, ISSN 1673-0070。

本刊是中国学术期刊综合评价数据库来源期刊,是《中文科技期刊中文数据库》的信息源,为《中国期刊网》《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊。主要栏目有:专题讨论、论著、药物与临床、科技交流、护理园地、临床药学、安全用药、综述、药房药事管理、短篇报道等。本刊欢迎下列稿件:对医院药学有实际指导意义的实验研究、临床药学、药物疗效观察、国内外最新药动学动态、医院药房管理、治疗学及护理学中的药物评估、药物不良反应、学术争鸣、读者建议等。

本刊为双月刊,大 16 开本,64 页,邮发代号 8-36 每期定价 7 元。如需订阅,1. 到当地邮局输明年的订购手续,邮发代号 8-36 2. 可直接汇款到编辑部订购,全年定价 42 元,免收邮费。地址:沈阳市和平区三好街 36 号《实用药物与临床》编辑部(110004),电话:024-83956364 E-mail sywy1ch2004@yahoo.com.cn