

HPLC 法同时测定交泰丸中 6 种成分

朱立静，宗 阳，何书芬，张 倩，居文政*
(南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定交泰丸(黄连和肉桂)中 6 种成分的含有量。**方法** 该药物 30% 甲醇提取液的分析采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-KH₂PO₄, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 276 nm。**结果** 表小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、肉桂醛分别在 0.64 ~ 41.24 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$)、0.65 ~ 43.76 μg/mL ($R^2 = 1.000\ 0$)、0.82 ~ 52.65 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$)、0.79 ~ 50.70 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$)、3.08 ~ 197.20 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 8$)、0.65 ~ 41.65 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$), 平均加样回收率分别为 98.06%、102.76%、99.27%、99.75%、96.74%、101.33%, RSD 分别为 0.56%、0.54%、0.39%、0.55%、0.48%、2.14%。**结论** 该方法准确、灵敏、稳定、重复性好, 可用于交泰丸的质量控制。
关键词: 交泰丸; 表小檗碱; 盐酸药根碱; 盐酸黄连碱; 盐酸巴马汀; 盐酸小檗碱; 肉桂醛; HPLC
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)11-2308-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.11.018

Simultaneous determination of six constituents in Jiaotai Pills by HPLC

ZHU Li-jing, ZONG Yang, HE Shu-fen, ZHANG Qian, JU Wen-zheng*
(Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of six constituents in Jiaotai Pills (*Coptidis Rhizoma* and *Cinnamomi Cortex*). **METHODS** The analysis of 30% methanol of this drug was performed on a 30 ℃ Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-KH₂PO₄ flowing at 0.8 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 276 nm. **RESULTS** Epiberberine, jatrorrhizine hydrochloride, coptisine hydrochloride, palmatine chloride, berberine hydrochloride and cinnamaldehyde showed good linear relationships within the ranges of 0.64 – 41.24 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$), 0.65 – 43.76 μg/mL ($R^2 = 1.000\ 0$), 0.82 – 52.65 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$), 0.79 – 50.70 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$), 3.08 – 197.20 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 8$) and 0.65 – 41.65 μg/mL ($R^2 = 0.999\ 9$), whose average recoveries were 98.06%, 102.76%, 99.27%, 99.75%, 96.74% and 101.33% with the RSDs of 0.56%, 0.54%, 0.39%, 0.55%, 0.48% and 2.14%, respectively. **CONCLUSION** This accurate, sensitive, stable and reproducible method can be used for the quality control of Jiaotai Pills.
KEY WORDS: Jiaotai Pills; epiberberine; jatrorrhizine hydrochloride; coptisine hydrochloride; palmatine chloride; berberine hydrochloride; cinnamaldehyde; HPLC

交泰丸源自《韩氏医通》，全方只有黄连和肉桂 2 味药材，比例为 10 : 1^[1]。其中，黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis*

teeta Wall. 的干燥根茎，味苦、寒，具有清热燥湿、泻火解毒的功效^[2]，含有多种异喹啉类生物碱^[3]，主要为表小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱等^[4]；肉桂为樟科

收稿日期: 2017-01-11
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573685); 重大新药创制项目(2012ZX09303009-002)
作者简介: 朱立静(1993—), 女, 硕士生, 研究方向为中药药代动力学。E-mail: 15295528915@163.com
* 通信作者: 居文政(1965—), 男, 教授, 主任药师, 博士生导师, 研究方向为中药临床药代动力学。Tel: (025)86617141, E-mail: wzju333@163.com
2308

植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮，味辛、甘，具有补火助阳、引火归元、散寒止痛、温通经脉的功效^[5]，主要成分为肉桂醛、肉桂酸、乙酸桂皮酯、乙酸苯丙酯、香豆素等^[4,6]。交泰丸以其药简效佳的特点，常用于治疗失眠、抑郁症、更年期综合征、糖尿病视网膜病变、皮肤病等^[7]。本实验建立 HPLC 法同时测定交泰丸中表小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、肉桂醛的含有量^[8-13]，为该制剂质量标准的优化提供借鉴。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪（包括脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、DAD 检测器、Chem Station A. 10.02 色谱工作站）；CPA225D 电子天平（德国 Sartorius 公司）；Legend Micro 17R 冷冻离心机（美国 Thermo 公司）；Milli-Q Advantage A10 超纯水机（美国 Millipore 公司）；KH5200E 超声波清洗器（昆山禾创超声仪器有限公司）。黄连购自安徽万生中药饮片有限公司，肉桂购自安徽省六山市国泰饮片有限公司，由江苏省中医院临床药理科居文政教授鉴定为正品。盐酸小檗碱（批号 16031814）、盐酸药根碱（批号 15092116）、表小檗碱（批号 16070805）、盐酸黄连碱（批号 16061705）、盐酸巴马汀（批号 16022614）对照品均购自成都曼斯特生物科技有限公司，盐酸巴马汀含有量 $\geq 94\%$ ，其余均 $\geq 98\%$ ；肉桂醛（批号 110710-201506）对照品购自中国食品药品检定研究院，含有量 $\geq 98\%$ 。甲醇、乙腈为色谱纯，购自德国 Merck 公司；水由 Millipore 超纯水系统制备。

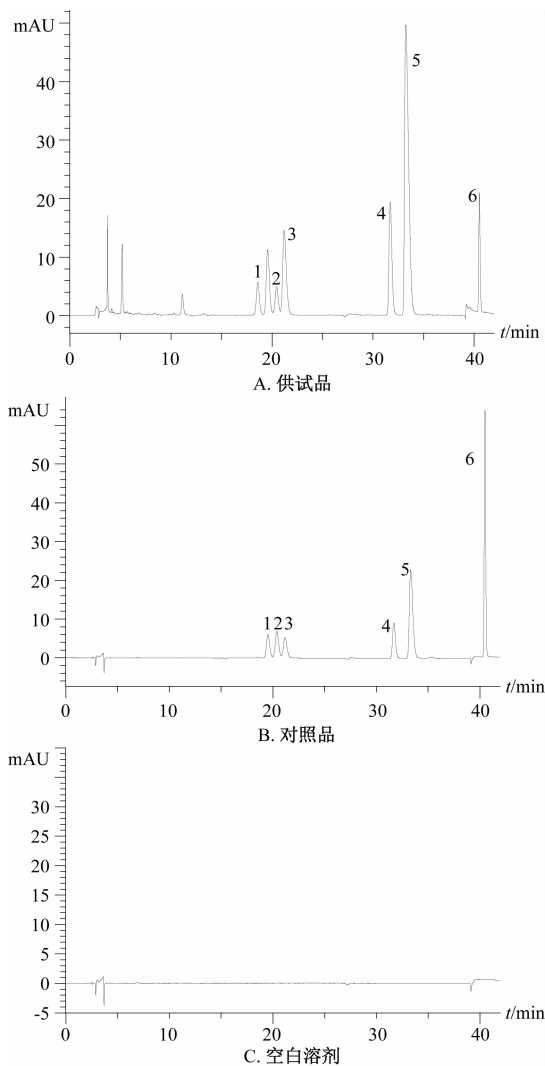
2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm ）；流动相乙腈（A）-KH₂PO₄（0.025 mol/L，磷酸调 pH 为 3.5，B），梯度洗脱（0 ~ 22.5 min，21% A；22.5 ~ 35 min，25% A；35 ~ 42 min，50% A）；体积流量 0.8 mL/min；检测波长 276 nm；柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量 20 μL 。

2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，置于 10 mL 棕色量瓶中，含 1% 盐酸的甲醇溶解并定容至刻度，即得（盐酸药根碱 1.044 mg/mL、表小檗碱 1.031 mg/mL、盐酸黄连碱 1.053 mg/mL、盐酸巴马汀 1.014 mg/mL、盐酸小檗碱 0.986 mg/mL、肉桂醛 1.665 9 mg/mL）。

2.3 供试品溶液制备 将黄连、肉桂打成细粉，过 100 目筛，按 10 : 1 比例均匀混合，即得交泰丸。精密称取 0.11 g，置于 25 mL 量瓶中，加入 20 mL 含 1% 盐酸的甲醇，超声 30 min，冷却至室温后定容至刻度，摇匀，2 000 r/min 离心 10 min，精密吸取上清液 1 mL 于 10 mL 量瓶中，30% 甲醇定容至刻度，摇匀，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，即得。

2.4 专属性考察 在“2.1”项色谱条件下，表小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、肉桂醛保留时间分别约为 19.590、20.477、21.235、31.675、33.223、41.369 min，其他成分无干扰，色谱图见图 1。



1. 表小檗碱 2. 盐酸药根碱 3. 盐酸黄连碱 4. 盐酸巴马汀
5. 盐酸小檗碱 6. 肉桂醛
1. epiberberine hydrochloride 2. jatrorrhizine 3. coptisine hydrochloride 4. palmatine chloride 5. berberine hydrochloride 6. cinnamaldehyde

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.5 线性关系考察 精密吸取各对照品贮备液适量, 30% 甲醇稀释成系列质量浓度, 取 20 μL 进样分析。以各成分质量浓度为横坐标 (X), 峰面积积分值为纵坐标 (Y) 进行回归, 结果见表 1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	R^2
表小檗碱	$Y = 52.495X - 3.2534$	0.64 ~ 41.24	1.0000
盐酸药根碱	$Y = 60.678X + 2.4437$	0.65 ~ 43.76	0.9999
盐酸黄连碱	$Y = 61.443X + 2.4437$	0.82 ~ 52.65	0.9999
盐酸巴马汀	$Y = 58.125X - 2.6493$	0.79 ~ 50.70	0.9999
盐酸小檗碱	$Y = 44.731X - 10.593$	3.08 ~ 197.20	0.9998
肉桂醛	$Y = 242.8X - 30.441$	0.65 ~ 41.65	0.9999

2.6 精密度试验 吸取对照品溶液适量 (含有量分别为 20.88、20.62、26.33、25.35、98.60、20.82 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 在“2.1”项色谱条件下分析, 平行 6 份, 测得表小檗碱、盐酸药根碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、肉桂醛峰面积

表 2 各成分加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab. 2 Results of recovery tests for various constituents ($n=6$)							
成分	称样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
表小檗碱	0.1104	1.167	1.031	2.170	97.28	98.06	0.56
	0.1101	1.164	1.031	2.175	98.06		
	0.1107	1.170	1.031	2.179	97.79		
	0.1107	1.170	1.031	2.190	98.91		
	0.1108	1.172	1.031	2.181	97.95		
	0.1106	1.169	1.031	2.183	98.38		
盐酸药根碱	0.1104	0.4265	0.522	0.9577	101.77	102.76	0.54
	0.1101	0.4251	0.522	0.9635	103.14		
	0.1107	0.4275	0.522	0.9627	102.52		
	0.1107	0.4273	0.522	0.9643	102.87		
	0.1108	0.4280	0.522	0.9652	102.90		
	0.1106	0.4269	0.522	0.9664	103.36		
盐酸黄连碱	0.1104	2.105	2.225	4.301	98.71	99.27	0.39
	0.1101	2.098	2.225	4.305	99.20		
	0.1107	2.110	2.225	4.328	99.66		
	0.1107	2.109	2.225	4.324	99.54		
	0.1108	2.112	2.225	4.313	98.91		
	0.1106	2.107	2.225	4.322	99.57		
盐酸巴马汀	0.1104	1.671	1.521	3.181	99.29	99.75	0.55
	0.1101	1.665	1.521	3.181	99.64		
	0.1107	1.675	1.521	3.184	99.25		
	0.1107	1.674	1.521	3.202	100.43		
	0.1108	1.677	1.521	3.189	99.47		
	0.1106	1.672	1.521	3.200	100.43		
盐酸小檗碱	0.1104	7.798	7.7076	15.22	96.27	96.74	0.48
	0.1101	7.774	7.7076	15.23	96.77		
	0.1107	7.817	7.7076	15.24	96.35		
	0.1107	7.814	7.7076	15.32	97.34		
	0.1108	7.826	7.7076	15.26	96.44		
	0.1106	7.805	7.7076	15.30	97.25		
肉桂醛	0.1104	0.2277	0.2499	0.4872	103.81	101.33	2.14
	0.1101	0.2270	0.2499	0.4865	103.81		
	0.1107	0.2283	0.2499	0.4822	101.61		
	0.1107	0.2282	0.2499	0.4797	100.62		
	0.1108	0.2286	0.2499	0.4774	99.57		
	0.1106	0.2280	0.2499	0.4743	98.58		

RSD 分别为 0.24%、0.58%、0.36%、0.31%、0.20%、0.75%, 表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一份样品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 在“2.1”项色谱条件下分析, 测得盐酸药根碱、表小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、肉桂醛含有量 RSD 分别为 1.21%、0.81%、1.20%、0.95%、1.16%、1.48%, 表明该方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液, 于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h, 在“2.1”项色谱条件下进样, 测得盐酸药根碱、表小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、肉桂醛峰面积 RSD 分别为 0.86%、1.06%、1.08%、0.91%、0.92%、1.72%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取含有量已知的交泰丸细粉约 0.11 g, 共 6 份, 精密加入适量对照品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 测定回收率, 结果见表 2。

2.10 样品含有量测定 按“2.3”项下方法制备供试品溶液,平行3份,在“2.1”项色谱条件下测定含有量,结果见表3。

表 3 各成分含有量测定结果 (mg/g, n=3)

Tab. 3 Results of content determination of various constituents (mg/g, n=3)

序号	表小檗碱	盐酸药根碱	盐酸黄连碱	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	肉桂醛
1	10.76	3.75	20.82	15.12	70.64	2.07
2	10.77	3.76	20.85	15.12	70.58	2.06
3	10.79	3.77	20.91	15.14	70.61	2.05
平均值	10.77	3.76	20.86	15.13	70.61	2.06

3 讨论

3.1 检测波长选择 对“2.2”项下对照品溶液在200~400 nm波长范围内进行扫描,发现在276 nm处各成分均有较好吸收,检测结果稳定,故选择其作为检测波长。

3.2 流动相选择 对0.025、0.033、0.05 mol/L KH₂PO₄溶液进行考察,发现0.025 mol/L下出峰时间短,峰形良好,故选择其作为流动相。再考察了pH 3、3.5、4,发现当pH为3.5时各成分峰形和分离度良好。

3.3 提取溶剂选择 考察了含1%盐酸的甲醇、含1%盐酸的50%甲醇、1%盐酸,发现含1%盐酸的甲醇提取更完全。再考察了15、30、45 min提取时间,发现30 min时已提取完全,故采用含1%盐酸的甲醇作为溶剂,提取30 min。

3.4 进样溶剂选择 考察了纯甲醇、80%甲醇、50%甲醇、30%甲醇、10%甲醇,发现30%甲醇

进样时各成分峰形较好,故选择其作为进样溶剂。

参考文献:

[1] 陈 广,陆付耳,徐丽君,等.不同肉桂与黄连配伍比例对交泰丸中肉桂酸含量的影响[J].中国医院药学杂志,2013,33(4):267-269.

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:303-305.

[3] 王 影,刘文娟,崔 瑛.黄连现代研究进展[J].中医学报,2014,29(11):1642-1645.

[4] 吴明侠,王淑美,梁生旺,等.交泰丸的配伍化学成分研究[J].中成药,2005,27(9):1119-1121.

[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:136-137.

[6] 南 洋,徐 鹏,高 宁,等.肉桂的化学成分及抑菌作用探索[J].中国调味品,2016,41(3):158-160.

[7] 周志焕,高 杉,李 琳,等.交泰丸临床及药理研究述要[J].天津中医药,2014,31(3):190-192.

[8] 曹英杰,原双兴,高 原,等.交泰丸指纹图谱研究[J].中国医院药学杂志,2015,35(10):920-922.

[9] 全世建,刘 妮,王红丹.不同比例配伍对交泰丸有效成分含量变化的影响[J].长春中医药大学学报,2007,23(1):68-70.

[10] 刘 芳,张 浩,青琳森.黄连 HPLC 数字化指纹图谱研究及7种生物碱含量测定[J].中国中药杂志,2013,38(21):3713-3719.

[11] 阳 勇,罗维早,孙建彬,等.HPLC法测定黄连药材及其炮制品中六种生物碱的含量[J].世界科学技术:中医药现代化,2015,17(3):596-602.

[12] 匡艳辉,朱晶晶,王智民,等.一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量[J].中国药学杂志,2009,44(5):390-394.

[13] 曾 超,陆 东,段伟昌,等.肉桂配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究[J].中国药房,2014,25(7):635-638.