

基于一测多评法鉴别蓝芩制剂中的黄柏与关黄柏

周智文¹, 刘豪^{2,3}, 朱纲^{2,3}, 姚建标^{2,3}, 周鑫^{2,3}, 王建房^{2,3}, 王如伟^{1*} (1.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 2.浙江康恩贝制药股份有限公司, 杭州 310052; 3.浙江省中药制药技术重点实验室, 杭州 310052)

摘要: 目的 建立蓝芩制剂中盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱的 HPLC 一测多评法, 并基于含量测定结果建立蓝芩制剂中黄柏与关黄柏的鉴别方法。方法 采用 Agilent 1260 色谱仪, Waters Atlantis T3(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱, 以乙腈-0.2%磷酸溶液(每 100 mL 加十二烷基磺酸钠 0.2 g)梯度洗脱, 流速为 1 mL·min⁻¹, 检测波长为 280 nm, 柱温 30 ℃, 以盐酸小檗碱为参照物, 计算盐酸黄柏碱及盐酸巴马汀的相对校正因子, 所得结果与外标法结果进行比较, 判断该方法的可靠性。利用聚类分析含量测定结果, 讨论黄柏与关黄柏对 3 种生物碱含量的影响, 建立鉴别方法, 对不同厂家的蓝芩制剂进行测定。结果 盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱分别在 1.087~54.35 μg·mL⁻¹, 0.100 9~20.18 μg·mL⁻¹, 0.536 5~26.82 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好; 平均加样回收率分别为 91.57%(RSD=3.0%), 97.96%(RSD=2.1%), 100.6%(RSD=1.1%); 相对校正因子分别为 0.368, 1.239。所得结果与外标法所测结果的 RSD<2%, 2 种方法无显著差异。聚类分析显示使用黄柏与使用关黄柏的蓝芩制剂 3 种生物碱含量有明显差异; 以盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀的含量比值为鉴别标准, 建议蓝芩制剂中“盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值不得<2.5”, 不同厂家的蓝芩制剂测定结果均符合标准, 表明工艺与原料对本方法无显著影响。结论 本研究建立了蓝芩制剂的 HPLC 一测多评法, 并建立了蓝芩制剂中黄柏与关黄柏的鉴别方法, 方法可信度高, 为蓝芩制剂的质量提升提供了参考。

关键词: 一测多评法; 蓝芩制剂; 鉴别; 黄柏; 关黄柏

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)10-1360-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20221397

引用本文: 周智文, 刘豪, 朱纲, 等. 基于一测多评法鉴别蓝芩制剂中的黄柏与关黄柏[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(10): 1360-1366.

Identification of Phellodendri Chinensis Cortex and Phellodendri Amurensis Cortex in Lanqin Preparation by QAMS

ZHOU Zhiwen¹, LIU Hao^{2,3}, ZHU Gang^{2,3}, YAO Jianbiao^{2,3}, ZHOU Xin^{2,3}, WANG Jianfang^{2,3}, WANG Ruwei^{1*} (1.School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Zhejiang CONBA Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310052, China; 3.Zhejiang Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Technology, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC qualitative analysis of multi-components by single-marker(QAMS) method for the determination of phellodendron hydrochloride, palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride in Lanqin preparation, and to establish a method for the identification of Phellodendri Chinensis Cortex and Phellodendri Amurensis Cortex in Lanqin preparation based on the content determination results. **METHODS** Using Agilent 1260 chromatograph and Waters Atlantis T3 column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the chromatographic column was gradient eluted with acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution(0.2 g sodium dodecyl sulfonate per 100 mL), the flow rate was 1 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 30 ℃, and the relative correction factors of phellodendron hydrochloride and palmatine hydrochloride were calculated with berberine hydrochloride as the reference. The results were compared with the results of external standard method to judge the reliability of the method. Based on the results of cluster analysis, the effects of Phellodendri Chinensis Cortex and Phellodendri Amurensis Cortex on the contents of three alkaloids were discussed, and the identification method was established to determine the Lanqin preparations from different manufacturers. **RESULTS** The concentrations of phellodendron hydrochloride, palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride had good linear relationship within 1.087~54.35 μg·mL⁻¹, 0.100 9~20.18 μg·mL⁻¹ and 0.536 5~26.82 μg·mL⁻¹ respectively. The average recoveries were 91.57%(RSD=3.0%), 97.96%(RSD=2.1%) and 100.6%(RSD=1.1%). The relative correction factors were 0.368 and 1.239, respectively. The RSD between the obtained results and the results measured by the external standard method was < 2%, and there was no significant difference between the two methods. Cluster analysis showed that there were significant differences in the contents of three alkaloids between Lanqin granule and its adulterants. Taking the content ratio of phellodine hydrochloride to palmatine hydrochloride as the identification standard, it was suggested that “the content ratio of phellodine

基金项目: 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室开放课题(GZYZ2020002)

作者简介: 周智文, 女, 硕士 E-mail: zhouzw@conbagroup.com *通信作者: 王如伟, 男, 博士, 正高级工程师 E-mail: ruwei.wang@tailongcapital.com

hydrochloride to palmatine hydrochloride should not be < 2.5 " in Lanqin preparation. The determination results of Lanqin preparation from different manufacturers were in line with the standard, indicated that the process and raw materials have no significant impact on this method. **CONCLUSION** In this study, an HPLC-QAMS for Lanqin preparation, and the identification method of *Phellodendri Chinensis* Cortex and *Phellodendri Amurensis* Cortex in Lanqin preparation is established, which with high reliability of the method provided a reference for the quality improvement of Lanqin preparation.

KEYWORDS: QAMS; Lanqin preparation; identify; *Phellodendri Chinensis* Cortex; *Phellodendri Amurensis* Cortex

蓝芩制剂为一种由板蓝根、黄芩、栀子、黄柏、胖大海等组成的中成药，具有清热解毒、利咽消肿之功能，临床上可用于咽喉炎、牙周炎、腮腺炎、扁桃体炎、肺炎及流感病毒引起的多种呼吸道疾病^[1-6]。现有国家药品标准主要对蓝芩制剂中栀子的栀子苷、黄芩的黄芩苷及黄柏的盐酸小檗碱进行薄层鉴别，对栀子苷进行含量测定。盐酸小檗碱又称黄连素，为一种异喹啉类生物碱，在植物中分布广泛，作为鉴别项缺乏特征性。关黄柏与黄柏同科同属，性状及化学成分组成相近，也含有盐酸小檗碱。中国药典在 2005 年版之前将黄柏、关黄柏共同归于黄柏的来源，2005 年版才开始对 2 种药材分别收载，但功能主治描述相同，且由于二者的相似性，在临床用药中仍有混用的情况^[7]。未来随着临床应用的继续扩大，可能存在一定的临床有效性、安全性风险。

黄柏与关黄柏的主要成分为生物碱类，包含盐酸药根碱、盐酸黄柏碱、木兰花碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱等^[8]。中国药典 2020 年版对黄柏的盐酸黄柏碱及盐酸小檗碱进行测定，对关黄柏的盐酸巴马汀及盐酸小檗碱进行测定。虽然 2 种药材中均含有盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱，但是经多批次药材检测，3 种生物碱含量差距显著，以盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀的含量比值为鉴别指标，通过聚类分析，划定区分标准，可以用于鉴别黄柏和关黄柏。为鉴别蓝芩制剂中的黄柏与关黄柏，本实验使用高效液相色谱—测多评法(HPLC-QAMS)对盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱 3 种异喹啉类生物碱进行含量测定，并对其含量比值进行研究。因目前盐酸小檗碱研究较多，且价格较低，以盐酸小檗碱为内标物计算不同成分的相对校正因子。

1 材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); AL104 电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-250DB 超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。

盐酸小檗碱对照品(质量分数 86.8%，批号：

110713-201613)、盐酸巴马汀对照品(质量分数 86.8%，批号：110732-201611)、盐酸黄柏碱对照品(质量分数 94.9%，批号：111895-201805)均购自中国食品药品检定研究院。十二烷基磺酸钠(批号：C12422929)、碱性氧化铝(批号：11291948)均购于上海麦克林生化科技股份有限公司。磷酸(批号：20200226)、甲醇(批号：20200927)均购于永华化学股份有限公司。乙腈(色谱纯，德国 Merck 公司，批号：JB095730)。蓝芩颗粒 S1~S8(浙江康恩贝制药股份有限公司，批号：200508，200507，200509，200203，200506，210706，210707，210708；规格：每袋 4 g)；蓝芩颗粒 S9~S12(湖南德康制药股份有限公司，批号：190708，200103，191204，190301；规格：每袋 8 g)；蓝芩口服液 S13~S16(扬子江药业集团有限公司，批号：19091282，18122022，19101981，20010481；规格：每支 10 mL)。蓝芩颗粒混淆品 S17~S19(按浙江康恩贝股份制药有限公司蓝芩颗粒工艺规程，用板蓝根、黄芩、栀子、关黄柏、胖大海投料自制；批号：210603-1，210603-2，201106-1)；蓝芩颗粒阴性供试品 S20(按浙江康恩贝股份制药有限公司蓝芩颗粒工艺规程，用板蓝根、黄芩、栀子、胖大海投料自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters Atlantis T3(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱；以乙腈为流动相 A，以 0.2%磷酸溶液(每 100 mL 含十二烷基磺酸钠 0.2 g)为流动相 B，梯度洗脱(0~10 min, 20%A；10~15 min, 20%→40%A；15~55 min, 40%→60%A)；检测波长为 280 nm；柱温为 30 ℃；流速 1 mL·min⁻¹；进样量为 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备

取盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 各含 1.039，1.009，1.073 mg 的贮备液，取上述贮备液各 1，0.5，0.5 mL 制成每 1 mL 含盐酸黄柏碱 20.78 μg、盐酸巴马汀 10.09 μg、盐酸小檗碱 10.73 μg 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品粉末约 0.5 g(S5), 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇各 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足失重, 离心, 精密移取上清液 25 mL, 置碱性氧化铝柱(100~200 目, 0.5 g, 内径为 1 cm)上, 用甲醇 50 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解定容至 10 mL, 过滤, 取续滤液, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取蓝芩颗粒阴性供试品(S20), “2.2”项下对照品溶液及“2.3”项下供试品溶液按“2.1”项下色谱方法测定, 结果各色谱峰峰型良好, 阴性无干扰, 说明方法专属性良好, 结果见图 1。

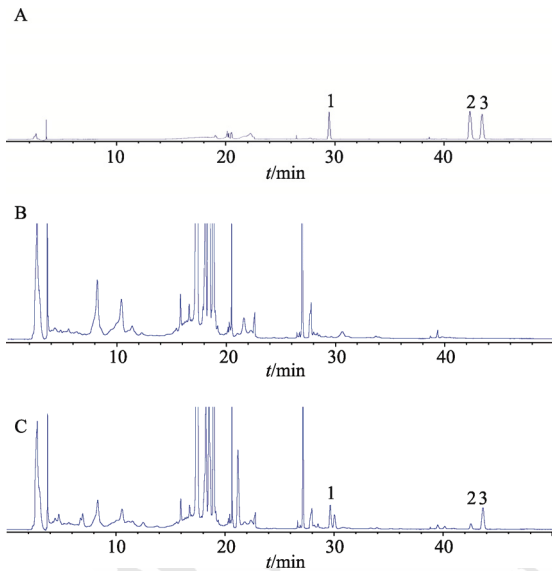


图 1 专属性试验结果

A-对照品溶液; B-阴性供试品溶液; C-供试品溶液; 1-盐酸黄柏碱; 2-盐酸巴马汀; 3-盐酸小檗碱。

Fig. 1 Results of specificity test

A-control solution; B-negative test solution; C-test solution; 1-phellodendron hydrochloride; 2-palmatine hydrochloride; 3-berberine hydrochloride.

2.4.2 线性关系试验 取盐酸黄柏碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 1.087 mg 的贮备液, 取上述贮备液 1 mL, 分别稀释 1 000, 100, 50, 25, 20 倍, 制备成 1.087, 10.87, 21.74, 43.48, 54.35 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度的对照品溶液; 取“2.2”项下盐酸巴马汀对照品贮备液 1 mL, 分别稀释 10 000, 2 500, 1 000, 200, 50 倍, 制备成 0.100 9, 0.403 6, 1.009, 5.045, 20.18 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液; 取“2.2”项下盐酸小檗碱对照品贮备液 1 mL, 分别稀释 2 000, 1 000, 500, 50, 40 倍, 制备成

0.536 5, 1.073, 2.146, 21.46, 26.82 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液; 分别取上述溶液按“2.1”项下色谱条件进行检测, 记录峰面积, 以对照品浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归计算。结果显示, 盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱分别在 1.087~54.35, 0.100 9~20.18, 0.536 5~26.82 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好, 见表 1。

表 1 3 种生物碱线性关系

Tab. 1 Linear relationship of three alkaloids

成分	回归方程	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
盐酸黄柏碱	$y=19.871x+9.039\ 4$	0.999\ 1	1.087~54.35
盐酸巴马汀	$y=76.245x+1.510\ 5$	1.000\ 0	0.100\ 9~20.18
盐酸小檗碱	$y=60.083x+0.118\ 9$	0.999\ 8	0.536\ 5~26.82

2.4.3 仪器精密度试验 取“2.2”项下混合对照品溶液 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得到盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱峰面积 RSD 分别为 0.9%, 0.8%, 0.9%, 表明该方法下仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件, 分别在 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样, 计算得到盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱峰面积 RSD 分别为 0.4%, 0.9%, 0.4%, 表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 重复性试验 取本品粉末约 0.5 g(S5), 精密称定, 按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下色谱条件检测, 得到盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱峰面积 RSD 分别为 1.4%, 2.7%, 1.9%, 表明方法重复性好。

2.4.6 加样回收率试验 取本品粉末约 0.5 g(S5), 精密称定, 平行 6 份, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸黄柏碱对照品溶液 9 mL, 盐酸巴马汀对照品溶液 1.5 mL、盐酸小檗碱对照品溶液 4.0 mL(盐酸黄柏碱浓度为 0.021 7 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 盐酸巴马汀浓度为 0.010 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 盐酸小檗碱浓度为 0.021 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 超声 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足失重, 离心, 精密移取上清液 25 mL, 置碱性氧化铝柱(100~200 目、0.5 g, 内径为 1 cm)上, 分别用甲醇 50 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解定容至 10 mL, 过滤, 取续滤液, 作为供试品, 即得, 检测, 计算回收率。结果盐酸黄柏碱的回收率为 91.57%, RSD 为 3.0%, 盐酸巴马汀回收率为 97.96%, RSD 为 2.1%, 盐酸小檗

碱回收率为 100.6%, RSD 为 1.1%, 表明方法回收率良好, 结果见表 2。

表 2 加样回收试验结果

Tab. 2 Results of recovery test

成分	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
盐酸黄柏碱	0.190 3	0.195 3	0.365 5	89.68	91.57	3.0
	0.187 7	0.195 3	0.366 9	91.79		
	0.187 3	0.195 3	0.371 5	94.32		
	0.187 7	0.195 3	0.360 7	88.56		
	0.186 7	0.195 3	0.372 5	95.12		
	0.187 0	0.195 3	0.362 6	89.94		
盐酸巴马汀	0.016 98	0.015 15	0.031 4	94.96	97.96	2.1
	0.016 74	0.015 15	0.031 3	95.99		
	0.016 70	0.015 15	0.031 9	100.2		
	0.016 74	0.015 15	0.031 6	98.29		
	0.016 65	0.015 15	0.031 7	99.27		
	0.016 68	0.015 15	0.031 7	99.09		
盐酸小檗碱	0.087 45	0.086 00	0.172 9	99.35	100.6	1.1
	0.086 22	0.086 00	0.171 9	99.67		
	0.086 05	0.086 00	0.174 0	102.3		
	0.086 26	0.086 00	0.173 1	101.0		
	0.085 78	0.086 00	0.172 8	101.1		
	0.085 92	0.086 00	0.172 3	100.4		

2.5 相对校正因子计算

精密吸取 6 份“2.2”项下混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 以盐酸小檗碱为内标, 按公式 $f = A_s \times C_i / (A_i \times C_s)$ (式中 C_i 为盐酸小檗碱浓度, A_i 为盐酸小檗碱峰面积, C_s 为待测组分浓度, A_s 为待测组分峰面积) 计算盐酸黄柏碱及盐酸巴马汀的相对校正因子, 取平均值作为相对校正因子, 盐酸黄柏碱相对校正因子为 0.368, 盐酸巴马汀相对校正因子为 1.239, 结果见表 3。

2.6 待测成分的色谱峰定位及校正因子耐用性考察

2.6.1 不同仪器及色谱柱对校正因子的影响 分别考察不同仪器(Aglient1260I、Aglient1260II), 不同色谱柱[Waters Atlantis T3(4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ Analytical (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Welch ultimate XB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)]对相对校正因子的影响, 结果可知仪器、色谱柱对相对校正因子无明显影响, 见表 4。

表 3 各成分相对校正因子

Tab. 3 Relative correction factor of each component

混合对照品溶液	相对校正因子(内标物盐酸小檗碱)	
	盐酸黄柏碱	盐酸巴马汀
1	0.368	1.242
2	0.367	1.236
3	0.369	1.242
4	0.369	1.236
5	0.368	1.237
6	0.368	1.241
平均值	0.368	1.239
RSD/%	0.3	0.3

表 4 仪器、色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 4 Influence of instrument and chromatographic column on relative correction factor

仪器	色谱柱	相对校正因子(内标物盐酸小檗碱)	
		盐酸黄柏碱	盐酸巴马汀
Aglient1260I	T3	0.368	1.239
	Plus	0.349	1.239
	ultimate	0.378	1.228
Aglient1260II	T3	0.370	1.244
	Plus	0.364	1.241
	ultimate	0.372	1.247
平均值		0.367	1.240
RSD/%		2.7	0.6

2.6.2 不同流速对校正因子的影响 分别考察不同流速(0.9, 1.0, 1.1 mL·min⁻¹)对校正因子的影响, 每组 2 份供试品进样检测, 结果 RSD 分别为 2.5%, 0.1%, 可知流速对相对校正因子无明显影响。

2.6.3 不同柱温对校正因子的影响 分别考察不同柱温(28, 30, 32 °C)对校正因子的影响, 每组 2 份供试品进样检测, 结果 RSD 分别为 2.4%, 0.2%, 可知柱温对相对校正因子无明显影响。

2.6.4 不同 pH 对校正因子的影响 分别考察流动相中不同磷酸加入量(0.19%, 0.20%, 0.21%)对校正因子的影响, 每组 2 份供试品进样检测, 结果 RSD 分别为 2.3%, 0.1%, 可知酸度对相对校正因子无明显影响。

2.6.5 待测成分的色谱峰定位 分别考察各待测成分在不同仪器、色谱柱下的相对保留时间, 结果显示, 仪器、色谱柱对相对保留时间无明显影响, 见表 5。

2.7 样品测定结果

取不同厂家的蓝芩制剂及蓝芩颗粒混淆品共 19 批(S1~S16、S17~S19), 按“2.3”项下方法制

表 5 仪器、色谱柱对保留时间的影响

Tab. 5 Influence of instrument and chromatographic column on retention time

仪器	色谱柱	相对保留时间		
		盐酸黄柏碱	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
Aglient1260I	T3	0.686	0.978	1.000
	Plus	0.668	0.977	1.000
	ultimate	0.673	0.972	1.000
Aglient1260II	T3	0.684	0.973	1.000
	Plus	0.697	0.981	1.000
	ultimate	0.678	0.978	1.000
平均值		0.681	0.977	/
RSD/%		1.6	0.4	/

备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分析,分别采用外标法(ESM)及 QAMS 对盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱的含量进行测定,使用统计软件 SPSS 25.0 进行独立样本 T 检验。结果表明 ESM 与 QAMS 2 种方法差异无统计学意义,结果见表 6~7。

表 6 蓝芩颗粒及蓝芩颗粒混淆品(S1~S8、S17~S19)ESM 及 QAMS 测定结果

Tab. 6 Determination results of ESM and QAMS of Lanqin granules and its adulterants S1~S8, S17~S19) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

序号	盐酸小檗碱含量	盐酸黄柏碱含量		盐酸巴马汀含量	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	0.258 4	0.689 0	0.687 8	0.066 9	0.066 9
S2	0.263 6	0.687 0	0.685 8	0.081 5	0.081 5
S3	0.289 8	0.748 9	0.747 6	0.088 5	0.088 5
S4	0.120 3	0.678 7	0.677 5	0.112 5	0.112 5
S5	0.177 9	0.374 4	0.371 0	0.034 6	0.034 7
S6	0.261 9	0.479 0	0.487 9	0.051 3	0.051 3
S7	0.252 1	0.437 1	0.445 2	0.043 3	0.043 3
S8	0.270 7	0.501 4	0.510 6	0.034 2	0.034 2
S17	0.730 3	0.242 6	0.254 1	0.407 9	0.408 4
S18	0.733 4	0.250 5	0.262 4	0.347 2	0.347 8
S19	0.865 9	0.263 6	0.276 1	0.477 6	0.478 3
P	/	0.952		0.998	

2.8 聚类分析

将工艺相同的 8 批蓝芩颗粒(S1~S8)及 3 批蓝芩颗粒混淆品(S17~S19)的 QAMS 测定结果输入 SPSS 25.0,经标准化处理后进行系统聚类分析,结果显示,当欧式距离为 25 时,共分为 2 类,蓝芩颗粒混淆品为第一类;蓝芩颗粒为第二类,见图 2。由结果可知,蓝芩颗粒与蓝芩颗粒混淆品中 3 种生物碱含量有明显差异。

表 7 蓝芩颗粒及蓝芩口服液(S9~S12、S13~S16)ESM 及 QAMS 测定结果

Tab. 7 Determination results of ESM and QAMS of Lanqin granules and Lanqin oral liquid (S9~S12, S13~S16)

序号	盐酸小檗碱含量	盐酸黄柏碱含量		盐酸巴马汀含量	
		$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		$\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS
S9	0.731 6	0.118 6	0.118 4	0.006 8	0.006 8
S10	0.571 1	0.079 7	0.079 5	0.006 7	0.006 7
S11	0.546 9	0.074 3	0.074 1	0.006 1	0.006 1
S12	0.750 4	0.116 7	0.116 5	0.000 4	0.003 6
S13	0.041 9	0.097 6	0.097 5	0.006 0	0.006 0
S14	0.020 1	0.111 7	0.111 5	0.002 3	0.002 3
S15	0.037 5	0.122 8	0.122 6	0.003 3	0.003 3
S16	0.023 1	0.098 7	0.098 6	0.005 0	0.005 0
P	/	0.985		0.702	

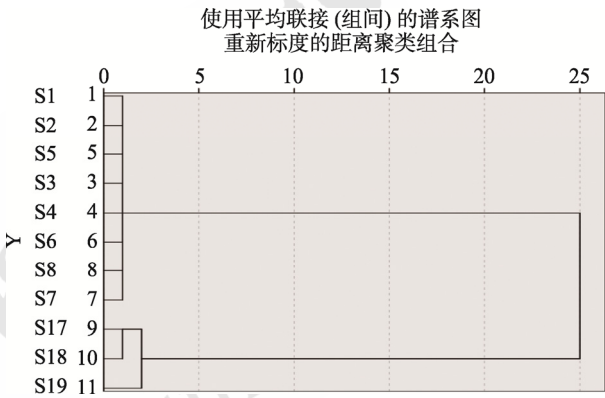


图 2 蓝芩颗粒及蓝芩颗粒混淆品含量聚类分析谱系图

Fig. 2 Cluster analysis pedigree of Lanqin granules and its adulterants

2.9 鉴别方法

2.9.1 方法建立 蓝芩颗粒与蓝芩颗粒混淆品的盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值范围无交叉,其中蓝芩颗粒中含量比值范围为 6.0~14.9,蓝芩颗粒混淆品中含量比值范围为 0.6~0.8,可以作为鉴别蓝芩颗粒中黄柏与关黄柏的方法,结果见表 8。建议蓝芩颗粒中“盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀的含量比值不得<2.5”。

2.9.2 方法考察 对市场上不同厂家的蓝芩制剂进行测定,考察工艺与原料对鉴别方法的影响,得到盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值范围为 11.9~47.7,均>2.5,表明工艺与原料对本方法无影响,结果见表 9。

3 讨论

本研究以 3 种生物碱为检测指标对蓝芩制剂进行检测,同时为降低杂质干扰,对供试品溶液

表 8 蓝芩颗粒及蓝芩颗粒混淆品盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀的含量比值

Tab. 8 Content ratio of baicaline hydrochloride and palmatine hydrochloride in Lanqin granules and its adulterants

序号	盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值	比值范围
S1	10.3	6.0~14.9
S2	8.4	
S3	8.4	
S4	6.0	
S5	10.7	
S6	9.5	
S7	10.3	
S8	14.9	
S17	0.6	0.6~0.8
S18	0.8	
S19	0.6	

表 9 不同企业蓝芩制剂盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀的含量比值

Tab. 9 Content ratio of berberine hydrochloride and palmatine hydrochloride in Lanqin preparation from other manufacturers

序号	盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值	比值范围
S9	17.5	11.9~47.7
S10	11.9	
S11	12.2	
S12	32.7	
S13	16.3	
S14	47.7	
S15	37.3	
S16	19.8	

的制备中提取溶剂(甲醇, 盐酸-甲醇 1 : 100, 70% 乙醇)^[9-12], 除杂方式(树脂, 中性氧化铝, 碱性氧化铝)^[13-15], 超声时间等不断优化, 最终确定制备方法为甲醇超声提取 30 min, 碱性氧化铝(内径 1 cm, 100~200 目, 0.5 g)除杂。以 3 种生物碱为检测指标, 同时兼顾色谱图基线平稳, 分析检测时间等因素, 对乙腈-氨试液、乙腈-缓冲盐磷酸水溶液、乙腈-离子对试剂溶液等流动相系统进行考察^[16-18], 最终确定乙腈-0.2%磷酸水溶液(每 100 mL 加入 0.2 g 十二烷基磺酸钠)为流动相, 梯度洗脱, 色谱图基线平稳, 色谱峰分离良好, 峰型对称。

药材来源的确切性是成方制剂安全有效的保障。现代研究表明黄柏药材中盐酸小檗碱含量较高, 盐酸巴马汀含量较低, 而关黄柏中 2 种生物碱含量相近^[19]。蓝芩制剂经一系列复杂工艺提取后, 呈现与关黄柏相似的含量状况, 即盐酸小檗

碱与盐酸巴马汀的含量相近。目前中成药中药材来源的鉴别手段较少, 无法鉴别蓝芩制剂中黄柏药材的来源。本研究建立 HPLC-QAMS 法对工艺与原料相同的蓝芩颗粒与蓝芩颗粒混淆品中的盐酸黄柏碱、盐酸巴马汀与盐酸小檗碱的含量进行了测定, 分析后发现蓝芩颗粒与蓝芩颗粒混淆品 3 种生物碱的含量有显著差异, 盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值范围无交叉, 且差异显著, 可作为蓝芩制剂中黄柏与关黄柏的鉴别方法。建议蓝芩制剂中“盐酸黄柏碱与盐酸巴马汀含量比值不得<2.5”。本研究同时对市场上不同厂家的蓝芩制剂进行了检测, 考察了工艺与原料对鉴别方法的影响, 提高了方法的可信度, 为蓝芩制剂的质量提升提供了参考。

REFERENCES

[1] WANG S M. Clinical effect of Lanqin oral liquid in the treatment of tonsillitis fever[J]. Med Diet Heal(医学食疗与健康), 2022, 20(1): 57-59.

[2] MIAO Z L, WANG T, DING X X, et al. Efficacy analysis of Lanqin oral liquid combined with western medicine in the treatment of community-acquired pneumonia[J]. Chin J Lung Dis Electron Ed(中华肺部疾病杂志: 电子版), 2021, 14(6): 797-799.

[3] 刘久红. 蓝芩口服液治疗慢性咽喉炎的临床效果分析[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(S2): 47.

[4] 孙建民, 孙颖, 李厚才. 青黛散联合蓝芩口服液治疗小儿流行性腮腺炎疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(11): 1395.

[5] LI H F. Effect of lanqin granules on the inflammatory factors of patients with periodontitis[J]. J New Chin Med(新中医), 2018, 50(1): 95-97.

[6] 李公星. 蓝芩颗粒治疗急性上呼吸道感染疗效观察[J]. 医药论坛杂志, 2013, 34(5): 130-131.

[7] DUAN L S, SHAN H J, QI X, et al. Analysis on the mixing phenomenon of Phellodendri Chinensis Cortex and Phellodendri amurensis cortex in fuyankang tablets[J]. Pract Pharm Clin Remedies(实用药物与临床), 2015, 18(8): 957-958.

[8] LI X K, FENG S, ZHENG Y C, et al. Research progress on chemical constituents and bioactivity of Phellodendri Chinensis Cortex and Phellodendri Amurensis Cortex[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2019, 42(5): 1033-1037.

[9] GUO L, HUANG P Q, YU Y C, et al. Simultaneous determination of five components in Weikangning granules by HPLC[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2020, 35(1): 137-140.

[10] YE X J, SONG F Y. Determination of berberine hydrochloride in Qingfei Yihuowan by HPLC[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(3): 90-92.

[11] TAO L, WANG Y J, LIANG Z, et al. Determination of five components in Niu Huang Shang Qing tablets by HPLC[J]. Pharm

- J Chin People's Liberation Army(解放军药学报), 2014, 30(2): 138-141.
- [12] SHI Y H, HUANG W K, HUANG Q W, et al. Content determination of six alkaloids in Fengshigutong tablet by SPE-HPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(12): 1797-1800.
- [13] LUO Y, QIAN C W, LIAO H J, et al. Saturated flow-through mode in SPE to determine berberine in Huanglian Shangqing pills by HPLC-UV[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2007, 27(5): 650-653.
- [14] CAI H K, LIU X F. Influence of alumina on the quaternary-ammonium-type-alkaloid in Rhizoma Coptidis and preparation[J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报), 2014, 20(7): 86-88.
- [15] 王世清. 中性氧化铝对三黄片中盐酸小檗碱含量测定的影响[J]. 中国药业, 2010, 19(20): 38.
- [16] WANG L, DU X, ZHU H L, et al. Review of pharmacological actions of effective components of *Phellodendron chinense*[J]. Jiangsu J Tradit Chin Med(江苏中医药), 2022, 54(4): 77-81.
- [17] LI H L, MO X Y. Content determination of berberine hydrochloride and hydrochloride phellodendrine in *Phellodendron chinense* by HPLC[J]. China Pharm(中国药房), 2014, 25(27): 2562-2564.
- [18] REN Y, XU H, GE Z Y, et al. Content determination of berberine hydrochloride in Jiangtang Xiaozhi tablets by HPLC[J]. China Pharm(中国药房), 2015, 26(18): 2530-2532.
- [19] ZHU Z M, LAI X X, SU M X. Determinations of active compositions in Cortex *Phellodendri Chinensis* and Cortex *Phellodendri Amurensis* from different areas by HPLC[J]. Clin Med & Eng(临床医学工程), 2011, 18(1): 106-108.
- 收稿日期: 2022-04-19
(本文责编: 李艳芳)