

## 一测多评法测定不同产地黄柏炭中 4 种生物碱含量

罗 婷,王佳琪,江宇勤,范顺明,张春玲,余凌英\*

成都中医药大学 中药材标准化教育部重点实验室,成都 611137

**摘要:**为建立同时测定不同产地黄柏炭中 4 种生物碱成分(黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱)的一测多评法。实验以小檗碱为内参物,基于 HPLC 法建立小檗碱与其它成分的相对校正因子,并用校正因子计算 4 种成分的含量;用外标法和一测多评法同时测定 30 批黄柏炭样品的含量。结果表明 30 批黄柏炭样品的外标法与一测多评法结果之间无明显差异,说明了一测多评法的准确性和可行性。因此在缺乏对照品的情况下,以小檗碱为内参物同时测定黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱的含量是可行的。该方法准确性和重复性良好,可用于黄柏炭的质量控制。

**关键词:**黄柏炭;一测多评;相对校正因子;黄柏碱;小檗红碱

中图分类号:R97;R283

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)8-1357-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.8.008

## Determination of four alkaloids in *Phellodendron chinense* charcoal from different producing areas by quantitative analysis of multi-components via single marker method

LUO Ting, WANG Jia-qi, JIANG Yu-qin, FAN Shun-ming, ZHANG Chun-ling, YU Ling-ying\*

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine School of Pharmacy, Chengdu 611137, China

**Abstract:** In this study, a new strategy for quantitative analysis of multi-components using a single marker (QAMS) was developed for the determination of four alkaloids (phellodendrine, magnolia, berberubine, berberine) in *Phellodendron chinense* charcoal from different producing areas. The relative correction factors (RCF) of berberine and other components were established by using berberine as the internal reference substance, and the content of the four components was calculated by RCFs. Determination of the content of 30 batches of samples by a conventional external standard method and the QAMS. The results showed that there was no significant difference between the conventional external standard method and the QAMS for 30 batches of charcoal samples. The QAMS method established in this study solved the problem of the availability and high cost of some standard substances, and would be useful for providing an efficient and feasible quality assessment method for *Phellodendron chinense* charcoal.

**Key words:** cortex phellodendri charcoal; quantitative analysis of multi-components by single marker; relative correction factor; phellodendrine; berberubine

黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮,习称川黄柏<sup>[1]</sup>。其主要成分有小檗碱、黄柏碱、木兰花碱、巴马汀、药根碱等生物碱类<sup>[2]</sup>。黄柏炭炮制品,具有清热燥湿,泻火除蒸,解毒疗疮的功效,但黄柏炭清湿热之中兼有涩性,多用于便血,崩漏下血,在全国炮制规范和各地炮制规范均有记载<sup>[3-5]</sup>。2015 年版《中国药典》以

小檗碱,黄柏碱作为黄柏质量控制标准,尚不能反映黄柏炭的质量,且黄柏制炭后各类成分含量均有所变化,巴马汀成分几乎消失殆尽,含量最高的小檗碱部分转化为分解产物小檗红碱<sup>[6]</sup>。木兰花碱和小檗红碱是黄柏炭中的重要成分,应同时作为质量控制指标才更具有合理性。本实验以小檗碱为内参物,得出黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱与小檗碱的相对校正因子,建立快捷、方便、全面、实用的一测多评法<sup>[7-10]</sup>,并对不同产地饮片进行质量控制,为其质量标准修订提供参考。

收稿日期:2019-01-28 接受日期:2019-06-13

基金项目:国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-SC-41)

\* 通信作者 Tel:86-013668118361; E-mail:yuly26@163.com

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

LC-2030C 岛津高效液相色谱仪(日本岛津公司);Sartorius BS110S 十万分之一分析天平(德国赛多利斯公司);KQ-300E 超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 材料

黄柏碱对照品(批号 wkq18051608,四川省维克

奇生物科技有限公司);木兰花碱(批号 wkq16050801,四川省维克奇生物科技有限公司);小檗碱对照品(批号 110713-201613,中国食品药品检定研究院);小檗红碱(批号 wkq16061402,四川省维克奇生物科技有限公司)均为纯度达到 98% 以上,可供含量测定用;其他试剂均为分析纯。实验用的 30 批黄柏炭样品信息表见表 1。

表 1 30 批黄柏炭样品来源信息

Table 1 30 batches of Carbonized Phellodendri Cortex source information

编号 No.	基源 Origin	产地 Habitat	收集方式 Collect	外观性状 Character
S1	<i>P. chinense</i> S.	出江镇(石夹子沟)	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S2	<i>P. chinense</i> S.	出江镇(石夹子沟)	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部黄褐色
S3	<i>P. chinense</i> S.	出江镇(石夹子沟)	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部褐色
S4	<i>P. chinense</i> S.	出江镇(石夹子沟)	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部棕黑色
S5	<i>P. chinense</i> S.	出江镇(石夹子沟)	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部褐色
S6	<i>P. chinense</i> S.	出江镇(石夹子沟)	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部棕黑色
S7	<i>P. chinense</i> S.	西岭镇小飞水	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部焦黑色
S8	<i>P. chinense</i> S.	西岭镇小飞水	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部黄褐色
S9	<i>P. chinense</i> S.	西岭镇小飞水	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部褐色
S10	<i>P. chinense</i> S.	花水湾镇阳沟	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部棕黑色
S11	<i>P. chinense</i> S.	花水湾镇阳沟	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部黄褐色
S12	<i>P. chinense</i> S.	花水湾镇阳沟	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部褐色
S13	<i>P. chinense</i> S.	雾山乡大烛村	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部棕黑色
S14	<i>P. chinense</i> S.	雾山乡大烛村	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部黄褐色
S15	<i>P. chinense</i> S.	雾山乡张家山	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部褐色
S16	<i>P. chinense</i> S.	荣经县花滩镇	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部棕黑色
S17	<i>P. chinense</i> S.	荣经县花滩镇	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S18	<i>P. chinense</i> S.	荣经县花滩镇	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部褐色
S19	<i>P. chinense</i> S.	荣经菜河乡	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部褐色
S20	<i>P. chinense</i> S.	荣经菜河乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S21	<i>P. chinense</i> S.	荣经菜河乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S22	<i>P. chinense</i> S.	荣经菜河乡	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦褐色,内部褐色
S23	<i>P. chinense</i> S.	荣经烈士乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S24	<i>P. chinense</i> S.	荣经烈士乡	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部棕黑色
S25	<i>P. chinense</i> S.	荣经烈士乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S26	<i>P. chinense</i> S.	荣经青龙乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S27	<i>P. chinense</i> S.	荣经青龙乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S28	<i>P. chinense</i> S.	荣经青龙乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S29	<i>P. chinense</i> S.	荣经青龙乡	企业收集加工	呈弯曲条状,表面焦黑色,内部褐色
S30	<i>P. chinense</i> S.	斜源镇仰天窝	企业收集加工	呈弯曲丝条状,表面焦黑色,内部褐色

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 SHIMADZU InertSustain-C<sub>18</sub> (4.6 × 250 mm, 5 μm); 乙腈(A)-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(B)溶液为流动相, 进行梯度洗脱: 0 ~ 15 min, 10% ~ 14% A; 15 ~ 35 min, 14% ~ 32% A; 35 ~ 50 min, 32% ~ 40% A。进样体积为 5 μL, 检测波长为

230 nm, 柱温为 35 °C; 流速 0.8 mL/min。

### 2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱适量, 分别制成浓度为 23.5、30.5、102.4、125.6 μg/mL 的对照品溶液, 混合对照品及饮片样品图见图 1。

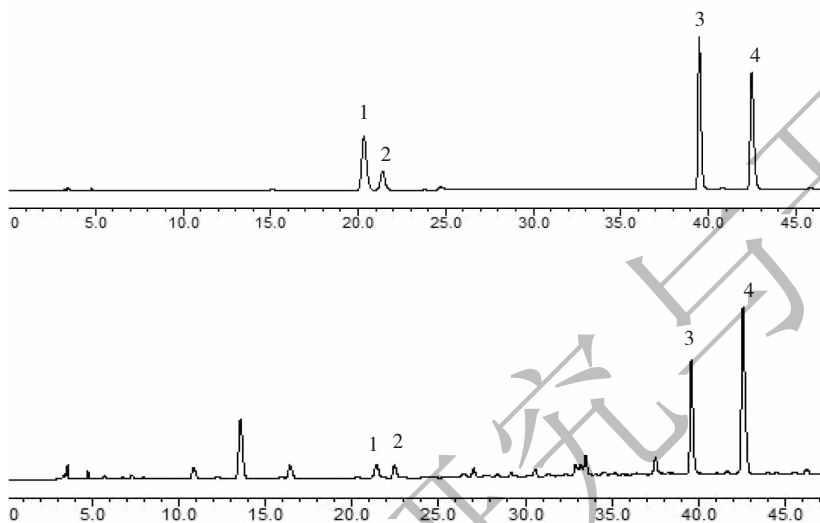


图 1 混合对照品溶液(A)和样品 HPLC 图谱(B)

Fig. 1 HPLC of reference substances (A) and samples (B)

注: 1 黄柏碱; 2 木兰花碱; 3 小檗红碱; 4 小檗碱。

Note: 1 phellodendrine; 2 magnolia; 3 berberubine; 4 berberine.

### 2.3 供试品溶液的制备

取黄柏炭样品粉末(过四号筛)约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 60 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减少的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”下的混合对照品溶液 0.5、0.8、1.2、5、10 mL 置 10 mL 容量瓶中定容, 制得 6 种不同浓度的混合对照品溶液。按照“2.1”下色谱

条件进行测定, 记录峰面积, 以峰面积(Y)为纵坐标, 浓度为横坐标做回归曲线方程, 各成分在相应的浓度范围内线性关系良好。结果见表 2。

### 2.5 精密度实验

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液各 5 μL, 分别重复进样 6 次, 测定 4 种对照品各自的峰面积, 结果黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱峰面积 RSD 值分别为 1.21%、0.54%、0.98%、1.18% 表明仪器精密度良好。

表 2 4 种黄柏炭生物碱成分的线性关系考察

Table 2 Investigation on the linear relationship of four kinds of Carbonized Phellodendri Cortex alkaloids

对照品 Component	回归方程 Regression equation	线性范围 Linearity (μg/mL)	R <sup>2</sup>
黄柏碱 Phellodendrine	$Y_1 = 13\ 618\ 498.60X - 118.12$	5.02 ~ 50.24	0.999 8
木兰花碱 Magnolia	$Y_2 = 9\ 153\ 987.50X + 9\ 417.1$	6.10 ~ 122	0.999 7
小檗红碱 Berberubine	$Y_3 = 33\ 254\ 713.30X - 16\ 046.8$	81.9 ~ 819.2	0.999 9
小檗碱 Berberine	$Y_4 = 32\ 308\ 511.80X - 68\ 815$	50.24 ~ 1\ 004.8	0.999 8

## 2.6 稳定性实验

取同一供试品溶液(S1),分别于0、3、6、12、24、48 h 进样5 $\mu$ L,测定并记录峰面积。结果黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱 RSD 分别为 1.72%、1.86%、1.09%、1.53%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

## 2.7 重复性实验

取同一批样品 6 份,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样 5  $\mu$ L,在“2.3”色谱条件下进行测定并记录峰面积。计算得到黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱的 RSD 分别为 0.58%、

1.61%、1.09%、0.84%,表明该方法重复性良好。

## 2.8 加样回收率实验

取 6 份已知含量的样品 0.2 g,精密称定,按加入的样品中黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱的含量比对照品含量比例为 1:1,分别精密加入对照品溶液。按“2.3”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下分析,测定峰面积,计算回收率,结果表明黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱、小檗碱平均加样回收率分别为 98.3%、100.5%、99.8%、102%,RSD 分别为 2.04%、1.58%、2.12%、1.28%,说明该方法准确度良好(见表 3)。

表 3 加样回收率计算结果( $n=6$ )  
Table 3 Results of recovery test( $n=6$ )

待测成分 Component	样品含量 Sample content (mg)	加入量 Added (mg)	测得量 Measured (mg)	加样回收率 Recovery (%)	平均加样回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
黄柏碱 Phellodendrine	1.539 7	1.884 0	3.404 8	99.0	98.30	2.04
	1.758 5	1.884 0	3.659 5	100.9		
	1.649 9	1.884 0	3.509 4	98.7		
	1.638 4	1.884 0	3.501 7	98.9		
	1.763 9	1.884 0	3.600 8	97.5		
	1.675 1	1.884 0	3.463 0	94.9		
木兰花碱 Magnolia	1.475 3	1.220 0	2.709 9	101.2	100.50	1.58
	1.685 0	1.220 0	2.886 7	98.5		
	1.580 9	1.220 0	2.835 0	102.8		
	1.569 9	1.220 0	2.776 5	98.9		
	1.690 1	1.220 0	2.921 1	100.9		
	1.605 1	1.220 0	2.833 6	100.7		
小檗红碱 Berberubine	5.348 4	5.120 0	10.560 6	101.8	99.80	2.12
	6.108 7	5.120 0	11.151 9	98.5		
	5.731 2	5.120 0	10.753 9	98.1		
	5.691 3	5.120 0	10.662 8	97.1		
	6.127 3	5.120 0	11.349 7	102.0		
	5.818 9	5.120 0	10.995 2	101.1		
小檗碱 Berberine	5.019 9	5.652 0	10.773 7	101.8	102	1.28
	5.733 5	5.652 0	11.396 8	100.2		
	5.379 2	5.652 0	11.234 7	103.6		
	5.341 8	5.652 0	11.044 7	100.9		
	5.751 0	5.652 0	11.538 6	102.4		
	5.461 6	5.652 0	11.288 8	103.1		

## 3 相对校正因子计算及耐用性考察

### 3.1 相对校正因子计算

取混合对照品溶液分别进样 2、4、6、8、10、20  $\mu$ L,按公式  $f_{k/m} = f_k/f_m = W_k \times A_m / (W_m \times A_k)^{[11]}$ ,式

中  $A_k$  为内标物峰面积,  $W_k$  为内标物质量或浓度,  $A_m$  为其他组分  $m$  的峰面积,  $W_m$  为其他组分的质量或浓度。以小檗碱为内参物,计算黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱的校正因子。结果见表 4。

表 4 黄柏炭 3 种生物碱成分相对校正因子

Table 4 Relative correction factors for three alkaloids in Carbonized Phellodendri Cortex

进样体积 Volume ( $\mu\text{L}$ )	相对校正因子 Relative correction factor		
	$f$ (小檗碱/黄柏碱) $f$ (Berberine/Phellodendrine)	$f$ (小檗碱/木兰花碱) $f$ (Berberine/Magnolia)	$f$ (小檗碱/小檗红碱) $f$ (Berberine/Berberubine)
2	0.332 1	0.298 7	1.075 0
4	0.341 2	0.299 1	0.989 1
6	0.346 7	0.307 8	1.004 2
8	0.330 2	0.319 4	0.990 1
10	0.332 1	0.319 5	0.987 2
20	0.330 2	0.309 8	0.987 8
平均值 Average	0.335 4	0.309 1	1.006 0
RSD%	2.05	2.98	3.44

### 3.2 待测组份色谱峰定位

利用 4 个成分色谱行为的不同,以小檗碱为基准峰,计算各个成分的相对保留值、保留时间差,确定其在色谱图中的位置。结果见表 5。

由表 5 可知,相对保留值  $\text{RSD} \leq 5\%$ ,保留时间差差异较小。通过相对保留值可准确判断目标峰的准确峰位置。

表 5 黄柏炭 3 种生物碱成分相对保留值和保留时间差

Table 5 Relative retention and retention time difference of three alkaloids in Carbonized Phellodendri Cortex

进样体积 Volume ( $\mu\text{L}$ )	相对保留值 Relative retention value			保留时间差 Retention time difference		
	$T$ (小檗碱/黄柏碱) $T$ (Berberine/ Phellodendrine)	$T$ (小檗碱/木兰花碱) $T$ (Berberine/ Magnolia)	$T$ (小檗碱/小檗红碱) $T$ (Berberine/ Berberubine)	$\Delta t$ (小檗碱/黄柏碱) $\Delta t$ (Berberine/ Phellodendrine)	$\Delta t$ (小檗碱/木兰花碱) $\Delta t$ (Berberine/ Magnolia)	$\Delta t$ (小檗碱/小檗红碱) $\Delta t$ (Berberine/ Berberubine)
2	0.335 4	0.504 3	1.006 0	22.823	21.816	3.279
4	0.483 9	0.507 1	0.925 0	22.801	21.778	3.312
6	0.481 8	0.505 4	0.925 5	22.81	21.773	3.281
8	0.477 9	0.501 7	0.926 0	22.984	21.937	3.259
10	0.479 6	0.502 9	0.926 0	22.877	21.85	3.253
20	0.477 1	0.501 7	0.925 8	22.953	21.874	3.258
平均值	0.480 3	0.503 8	0.925 6	22.875	21.838	3.274
RSD%	0.53	0.43	0.04	0.34	0.29	0.68

### 3.3 考察不同色谱柱及高效液相色谱仪对校正因子和相对保留时间的影响

在两种不同的仪器上考察了 3 个品牌色谱柱对校

正因子的影响,结果表明:不同品牌色谱柱对校正因子和相对保留时间无明显影响,结果见表 6。

表 6 不同仪器和色谱柱对相对校正因子的影响

Table 6 Effect of different instruments and columns on relative correction factors

仪器 Instrument	色谱柱 Chromatographic column	相对校正因子 Relative correction factor			相对保留值 Relative retention value		
		$f$ (小檗碱/黄柏碱) $f$ (Berberine/ Phellodendrine)	$f$ (小檗碱/木兰花碱) $f$ (Berberine/ Magnolia)	$f$ (小檗碱/小檗红碱) $f$ (Berberine/ Berberubine)	$T$ (小檗碱/黄柏碱) $T$ (Berberine/ Phellodendrine)	$T$ (小檗碱/木兰花碱) $T$ (Berberine/ Magnolia)	$T$ (小檗碱/小檗红碱) $T$ (Berberine/ Berberubine)
岛津 LC-2030C	InertSustain	0.335 4	0.309 1	1.006 0	0.480 3	0.503 8	0.925 6
	Global Chromatography	0.341 2	0.308 3	1.012 1	0.502 3	0.524 1	0.993 1
	Kromasil	0.329 8	0.316 9	0.946 4	0.474 5	0.502 1	0.945 2

续表 6(Continued Tab. 6)

仪器 Instrument	色谱柱 Chromatographic column	相对校正因子 Relative correction factor			相对保留值 Relative retention value		
		$f(\text{小檗碱/黄柏碱})$ $f(\text{Berberine/Phellodendrine})$	$f(\text{小檗碱/木兰花碱})$ $f(\text{Berberine/Magnolia})$	$f(\text{小檗碱/小檗红碱})$ $f(\text{Berberine/Berberubine})$	$T(\text{小檗碱/黄柏碱})$ $T(\text{Berberine/Phellodendrine})$	$T(\text{小檗碱/木兰花碱})$ $T(\text{Berberine/Magnolia})$	$T(\text{小檗碱/小檗红碱})$ $T(\text{Berberine/Berberubine})$
Angilent1260	InertSustain	0.336 0	0.311 0	0.978 3	0.489 0	0.506 4	0.931 2
	Global Chromatography	0.348 9	0.307 9	0.965 9	0.516 5	0.511 4	0.908 3
	Kromasil	0.328 1	0.309 8	1.010 9	0.469 3	0.508 4	0.942 2
平均值 Average		0.336 6	0.310 5	0.986 6	0.488 7	0.509 4	0.940 9
RSD%		2.27	1.07	2.77	3.67	1.56	3.06

### 3.4 考察不同柱温、波长、流速对校正因子的影响

在同一色谱条件下,考察 25、30、35 ℃ 三个柱温、215、230、245 nm 三个波长、考察 0.6、0.8、1 mL/

min 三个体积流量对校正因子的影响,由表 5 可知柱温、波长、流速的变化对相对校正因子的影响不大。结果见表 7。

表 7 不同柱温对相对校正因子的影响

Table 7 Effect of different column temperatures on relative correction factors

影响因素 Influence factor	不同条件 Different condition	相对校正因子 Relative correction factor		
		$f(\text{小檗碱/黄柏碱})$ $f(\text{Berberine/Phellodendrine})$	$f(\text{小檗碱/木兰花碱})$ $f(\text{Berberine/Magnolia})$	$f(\text{小檗碱/小檗红碱})$ $f(\text{Berberine/Berberubine})$
柱温 Temperature(℃)	25	0.351 2	0.334 1	1.103 2
	30	0.347 8	0.322 1	0.992 8
	35	0.335 4	0.309 1	1.006 0
	平均值 Average	0.344 8	0.321 8	1.029 3
	RSD%	2.411 9	3.885 8	4.545 5
	波长 Wavelength(nm)	215	0.341 5	0.320 1
	230	0.335 4	0.309 1	1.006 0
	245	0.315 1	0.292 5	0.985 5
	平均值 Average	0.330 7	0.307 2	1.000 9
RSD%	4.180 0	4.522 4	1.357 6	
体积流量 Flow(mL/min)	0.6	0.321 4	0.298 9	0.981 9
	0.8	0.335 4	0.309 1	1.006 0
	1	0.347 8	0.321 2	1.011 3
	平均值 Average	0.334 9	0.309 7	0.999 7
	RSD%	3.94	3.60	1.57

### 4 不同产地黄柏炭测定结果

按供“2.3”项下方法制备样品,分别精密吸取供试品溶液各 5 μL 注入高效液相色谱仪测定。采用外标法和一测多评法分别测定含量,结果见表 8。

测定结果表明,外标法与一测多评法测得的含量无明显差异,说明该方法测定结果具有较高可信度。不同产地黄柏经炭制后 4 种生物碱成分含量具

有明显的区别,其中蒙经县的黄柏炭炮制品成分含量相对较高。

### 5 结论

现代研究发现,黄柏经炒炭后有 21 种化学成分在炮制前后具有明显的差异<sup>[12]</sup>。因此单一成分作为质量控制指标不够全面。黄柏在炒炭过程中,随着炮制时间延长,小檗碱质量分数逐渐减少,而小檗

表 8 不同地区黄柏炭 4 种生物碱测定结果

Table 8 Determination of four alkaloids in Carbonized Phellodendri Cortex in different regions

编号 No.	产地 Habitat	小檗碱 Berberine (mg/g)	黄柏碱 Phellodendrine (mg/g)	木兰花碱 Magnolia (mg/g)		小檗红碱 Berberubine (mg/g)		
		外标法 External standard method	外标法 External standard method	一测多评法 QAMS	外标法 External standard method	一测多评法 QAMS	外标法 External standard method	一测多评法 QAMS
S1	出江镇(石夹子沟)	21.668	3.654	3.647	1.980	1.983	9.765	9.736
S2	出江镇(石夹子沟)	9.980	3.061	3.075	2.933	2.928	10.633	10.673
S3	出江镇(石夹子沟)	39.383	5.442	5.418	2.703	2.679	15.356	15.287
S4	出江镇(石夹子沟)	19.507	3.814	3.808	2.185	2.182	11.174	11.151
S5	出江镇(石夹子沟)	23.244	3.609	3.600	1.988	1.990	10.673	10.639
S6	出江镇(石夹子沟)	6.907	2.072	2.093	1.389	1.424	6.225	6.272
S7	西岭镇小飞水	28.019	4.726	4.711	1.943	1.944	10.234	10.192
S8	西岭镇小飞水	14.143	2.324	2.326	0.098	0.150	8.294	8.290
S9	西岭镇小飞水	10.450	3.255	3.268	2.505	2.509	8.629	8.653
S10	花水湾镇阳沟	9.048	2.302	2.315	2.501	2.510	13.088	13.163
S11	花水湾镇阳沟	12.357	2.951	2.957	2.292	2.295	8.811	8.818
S12	花水湾镇阳沟	10.628	2.566	2.575	2.184	2.193	9.562	9.588
S13	雾山乡大烛村	9.893	2.121	2.130	1.992	2.007	8.285	8.312
S14	雾山乡大烛村	6.393	1.632	1.657	1.461	1.497	6.773	6.836
S15	雾山乡张家山	8.216	1.927	1.948	1.595	1.621	7.325	7.363
S16	荣经县花滩镇	15.106	3.590	3.606	2.147	2.152	10.717	10.715
S17	荣经县花滩镇	20.965	4.059	4.069	1.942	1.947	8.183	8.156
S18	荣经县花滩镇	22.820	4.75	4.758	2.841	2.819	12.175	12.142
S19	荣经荣河乡	22.603	4.583	4.591	2.780	2.762	9.561	9.530
S20	荣经荣河乡	16.120	3.393	3.406	2.149	2.150	9.989	9.979
S21	荣经荣河乡	31.942	5.743	5.744	1.963	1.962	9.003	8.957
S22	荣经荣河乡	18.887	4.109	4.120	2.626	2.612	12.575	12.555
S23	荣经烈士乡	19.342	4.010	4.022	2.366	2.361	9.215	9.193
S24	荣经烈士乡	5.260	0.799	0.814	2.686	2.718	8.538	8.663
S25	荣经烈士乡	21.263	4.643	4.653	2.402	2.394	10.486	10.458
S26	荣经青龙乡	16.710	4.388	4.404	2.794	2.779	11.238	11.227
S27	荣经青龙乡	34.202	6.273	6.273	3.049	3.016	13.543	13.486
S28	荣经青龙乡	28.593	5.154	5.158	3.646	3.600	15.866	15.815
S29	荣经青龙乡	30.838	4.599	4.601	1.898	1.899	9.617	9.572
S30	斜源镇仰天窝	13.896	3.279	3.296	1.765	1.779	9.685	9.686

红碱质量分数逐渐增加,据此推测,小檗碱在加热过程中可脱去一个甲基转变为小檗红碱<sup>[13]</sup>,且小檗红碱在 4 种生物碱含量中仅次于小檗碱,因此增加其作为一测多评法测定指标之一。本实验引入一测多

评法,实现黄柏炭 4 种生物碱成分的同时测定,对现有质量控制方法进行提升,使其更快捷、方便、全面。

本实验考察了不同柱温、流速、色谱柱、液相色谱系统对小檗碱与黄柏碱、木兰花碱、小檗红碱之间

相对校正因子的影响,验证一测多评法在黄柏炭质量控制中的可行性和适应性。在不同流速的考察过程中,3种流速对于混合对照品均无明显影响,但是黄柏炭样品中成分较多,不同的流速对黄柏炭样品具有较大影响。在对比了3种流速下黄柏炭样品峰的基线、分离度、对称因子等因素后,最后选择采用流速0.8 mL/min作为本实验中HPLC流速。

本实验选择的30批黄柏均来源于四川。四川作为黄柏的主要产区,在中国国内的生产和销售都占有举足轻重的地位。30批黄柏炭中,以荣经县的黄柏炭炮制程度最好,各成分含量也相对较高。黄柏炒炭后,外观性状和内在成分变化明显,且所购黄柏炭饮片也因此难以做到炒炭程度统一,因此对于炮制工艺参数的研究也极为重要。本实验通过对各主要有效成分的精确定量测定,为黄柏炭质量的控制和评价提供更好技术参考,同时为本课题接下来进一步研究黄柏炭的炮制工艺参数奠定基础。

#### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015:305.
- 2 Gao Y, Zhou HF, Liu D, et al. Advances in chemical constituents analysis and pharmacological action of *Phellodendron chinensis* [J]. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2019, 4:207-209.
- 3 Wang SH, Deng Z, Zhang J, et al. Preparation and quality standard of standard decoction of *Phellodendri chinensis* cortex pieces [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2018, 43:873-878.
- 4 Zang Q. Study on quality standards of guanhuangbai and chuanhuangbai [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine (北京中医药大学), 2009.
- 5 Zhu ZK, Yang J, Zhu YQ. Research progress of carbon drugs [J]. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2016, 12(19):76-77.
- 6 Yang Y, Lei ZY, Zhou XG, et al. Chemical and pharmacological research of berberrubi [J]. *Pro Mod Bio* (现代生物医学进展), 2013, 13:977-979.
- 7 Wang W, Gao L, Jang WY, et al. Determination of six active ingredients in crude and processed corni fructus by quantitative analysis multi-components with single-marker [J]. *Chin Med J Res Prac* (现代中药研究与实践), 2018, 32(5):38-41.
- 8 Wang ZM, Qian ZZ, Zang QW, et al. A technical guide for the establishment of a multi-evaluation method [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2011, 36:657-658.
- 9 Li TX, Li M, Zhang Z, et al. Simultaneous determination of 6 alkaloids in prepared slides of *coptis chinensis* franch. by QAMS [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2018, 38:1132-1138.
- 10 Ma J, Cao B, Chen L, et al. Determination of four coumarins in angelicadahurica with different grades by UPLC and QAMS [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2018, 10:2120-2124.
- 11 Huang QL, Luo L, Li Q, et al. Study on applicability of QAMS to *Phellodendri chinensis* cortex formula granules and cork pieces [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2015, 35:1470-1474.
- 12 Li LX, Qiao B, Li YB, et al. Changes of chemical constituents in *Phellodendri chinensis* cortex before and after charring based on RPLC/Q-TOF-MS technology [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2012, 43:1314-1319.
- 13 Qi DL, Jia TZ, Lian L. Study on chemical composition conversion of *Phellodendron chinense* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2010, 32:443-447.