黄连解毒丸质量标准的再评价

张文文[1]， 王 姚[2]， 曾 嵘[3]， 张文静[2]， 罗 虹[2]， 张 倩[2]， 刘 涛[1,2*]
(1. 成都大学四川抗菌素工业研究所，四川 成都 610052；2. 成都大学药学与生物工程学院，四川 成都 610106；3. 成都九芝堂金鼎药业有限公司，四川 成都 610051)

摘要：目的 对黄连解毒丸质量标准进行再评价。**方法** 采用加样回收试验对原标准的定量测定进行准确度研究。然后，HPLC 法测定栀子苷含有量，建立其指纹图谱。**结果** 原标准中的准确度不符合相关要求。本实验中栀子苷在 0.132 4~0.794 4 μg 范围内线性关系良好，平均加样回收率为 101.01%，RSD 为 3.88%。10 批样品 HPLC 指纹图谱中有 18 个共有峰，相似度 0.995~1.000，将其中 15 个归属到各药材，明确了 7 个所含的化学成分。**结论** 该方法合理可行，可用于黄连解毒丸的质量控制。样品 HPLC 指纹图谱与对照指纹图谱的相似度应大于 0.900。

关键词：黄连解毒丸；准确度；栀子苷；指纹图谱；HPLC
中图分类号：R927.2 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-1528(2019)10-2328-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.009

Quality standard reevaluation for Huanglian Jiedu Pills

ZHANG Wen-wen[1]， WANG Yao[2]， ZENG Rong[3]， ZHANG Wen-jing[2]， LUO Hong[2]，
ZHANG Qian[2]， LIU Tao[1,2*]
(*1. Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu University, Chengdu 610052, China; 2. College of Pharmacy and Biotechnology Industry, Chengdu University, Chengdu 610106, China; 3. Chengdu Jiuzhitang Jinding Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610051, China*)

KEY WORDS: Huanglian Jiedu Pills; accuracy; geniposide; fingerprints; HPLC

黄连解毒丸由大黄（酒炒）、黄连（酒浸）、黄芩（酒蒸）、黄柏（酒炒）、滑石、栀子（炒）、川木通 7 味药材组成，为黄褐色水丸，是成都九芝堂金鼎药业有限公司的独家品种，具有泻火、解毒、通便等功效，用于三焦积热、口舌生疮、目赤头痛、便秘溲赤、心胸烦热、热痢泄泻、咽痛衄血、疮疖痔血，其质量标准收载于《国家中成药标准汇编（中成药地方标准上升国家标准部分 内科 脾胃分册）》，但仅采用薄层扫描法对黄连、黄柏含有量进行测定[1]，方法重复性、准确度较低，受操作人员影响较大，难以进行有效控制。

准确度是指采用该方法测定的结果与真实值或参考值接近的程度，一般用回收率表示[2]。在对同时测定黄芩苷、盐酸小檗碱含有量的方法学进行考察时发现，加样回收率远低于限度要求，无法准确测定；对黄连解毒丸中主要成分的理化性质进行分析发现，黄连与包括黄芩、大黄在内的许多中药共煎煮时均有沉淀物产生[3]，而且可溶于吡啶、稀酸、稀碱，微溶于冷甲醇、乙醇，不溶于水、氯仿、石油醚，在热甲醇中能不断溶解，冷却后又生成沉淀[4]。但目前含黄芩、黄连、黄柏的中成药几乎都建立了黄芩苷和（或）盐酸小檗碱含有量测定项，故方法学考察中应进行准确度研究，即加样回收率试验。

课题组前期发现，由于黄芩苷与盐酸小檗碱生成沉淀，故两者加样回收率均不符合要求。基于此，本实验以黄连解毒丸为代表，对黄芩苷、盐酸小檗碱含有量测定方法的准确度进行研究，考虑到该制剂由 7 味药材组成，再以栀子苷为指标。同时，根据中药多组分、多靶点整体综合作用的特

收稿日期：2018-11-04
基金项目：四川省科技厅 2018 年科技项目（2018TJPT0049，2018ZR0107）；成都大学教改项目（cdjgy2017010）
作者简介：张文文（1995—），女，硕士生，研究方向为中药药剂学。Tel：15756291579，E-mail：zhangww0629@163.com
*通信作者：刘 涛(1976—)，男，博士，研究员级高级工程师，从事中药新药研究及中成药质量再评价研究工作。Tel：13378118375，E-mail：liutao0578@sina.com

点[5-7]，从全成分角度出发建立黄连解毒丸 HPLC 指纹图谱，它是一种综合的、可量化的鉴别模式，具有快速准确的特点[8]，可有效检测和控制中药产品的真实性、质量一致性、稳定性[9-10]，可为制定该制剂全面整体的质量控制方法提供实验依据。

1 材料

Waters 2695 型高效液相色谱仪，配置 Waters 2996 型 PAD 检测器（美国 Waters 公司）；FA2004 型电子分析天平（上海良平仪器仪表有限公司）；P230Ⅱ型高效液相色谱仪（大连依利特分析仪器有限公司）；SQP 型电子分析天平［赛多利斯科学仪器（北京）有限公司］；KQ-100E 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；

栀子苷（批号 16052902）、黄芩苷（批号 150718）、盐酸小檗碱（批号 16072302）、黄芩素（批号 150307）、汉黄芩素（批号 140217）、盐酸巴马汀（批号 16060803）、盐酸药根碱（批号 16070305）对照品均购于四川省维克奇生物科技有限公司。大黄（酒炒）（批号 170108）、黄连（酒浸）（批号 161124）、黄芩（酒蒸）（批号 170302）、黄柏（酒炒）（批号 161224）、栀子（炒）（批号 161002）、川木通（批号 161223）、滑石（批号 170119）均经成都大学刘涛研究员鉴定为正品。黄连解毒丸（批号 20170425、20170426、20180122、20180301、20180302、20180307、20180308、20180320、20180321、20180412，编号 S1~S10）由成都九芝堂金鼎药业有限公司提供。甲醇、乙腈为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷、盐酸小檗碱含有量测定

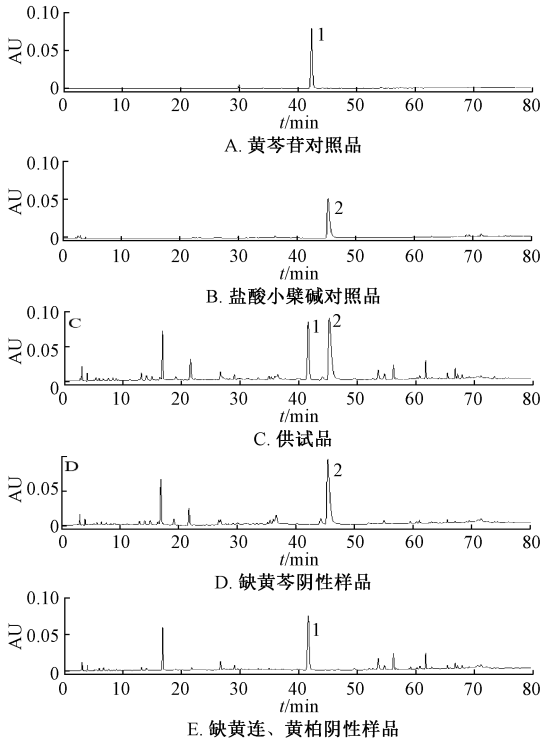
2.1.1 色谱条件 Hypersil ODS-2 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.2% 磷酸（B），梯度洗脱（0~32 min，8%→24% A；32~46 min，24% A；46~55 min，24%→34% A；55~63 min，34%→54% A；63~80 min，54%→68% A）；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 238 nm；进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液制备 （1）精密称取黄芩苷、盐酸小檗碱对照品适量，甲醇制成每 1 mL 分别含两者 347.2、569.6 μg 的溶液，即得。（2）精密称取黄芩苷、盐酸小檗碱对照品适量，甲醇制成每 1 mL分别含两者 1 209.6、579 μg 的溶液，即得。（3）精密称取黄芩苷、盐酸小檗碱对照品适量，二甲基亚砜制成每 1 mL 分别含两者 378、651 μg 的溶液，即得。

2.1.3 供试品溶液制备 取丸剂适量，研细，精密称取约 0.25 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声（100 W、40 kHz）30 min，取出，冷却至室温，甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

2.1.4 阴性样品溶液制备 按处方比例分别除去黄芩及黄连、黄柏，作为阴性样品，按“2.1.3”项下方法制备，即得。

2.1.5 专属性试验 吸取“2.1.2”~“2.1.4”项下溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由图可知，阴性样品无干扰，方法专属性强。



1. 黄芩苷 2. 盐酸小檗碱

1. baicalin 2. berberine hydrochloride

图 1 黄芩苷、盐酸小檗碱 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of baicalin and berberine hydrochloride

2.1.6 线性关系考察 精密吸取“2.1.2”项下对照品溶液（1）1、2、3、4、5、6 mL，置于 10 mL 量瓶中，甲醇定容，摇匀，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程分别为黄芩苷

$Y=1.00\times10^{6}X-9.84\times10^{4}$（$R^2=0.9995$）、盐酸小檗碱 $Y=8.34\times10^{5}X-7.66\times10^{4}$（$R^2=0.9995$），分别在 0.347 2～2.083 2、0.569 6～3.417 6 μg 范围内线性关系良好。

2.1.7　精密度试验　精密吸取“2.1.3”项下供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得黄芩苷、盐酸小檗碱峰面积 RSD 分别为 1.33%、0.73%，表明仪器精密度良好。

2.1.8　重复性试验　取样品（编号 S2）适量，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，平行 6 份，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芩苷、盐酸小檗碱含有量 RSD 分别为 2.18%、2.56%，表明该方法重复性良好。

2.1.9　稳定性试验　取样品（编号 S2）适量，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得黄芩苷、盐酸小檗碱峰面积 RSD 分别为 1.49%、1.17%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.10　加样回收率试验　取样品（编号 S2）适量，研细，精密称取约 0.125 g，平行 6 份，精密加入黄芩苷、盐酸小檗碱对照品适量，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表 1。

表 1　黄芩苷、盐酸小檗碱加样回收率试验结果（$n=6$）

Tab. 1　Results of recovery tests for baicalin and berberine hydrochloride（$n=6$）

成分	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
黄芩苷	1.12	1.11	1.78	59.46	60.32	5.82
	1.10	1.11	1.76	59.91		
	1.10	1.11	1.77	60.01		
	1.10	1.11	1.85	67.13		
	1.10	1.11	1.71	57.18		
	1.09	1.11	1.74	58.24		
盐酸小檗碱	2.53	2.48	4.36	73.79	69.25	7.04
	2.50	2.48	4.37	75.44		
	2.51	2.48	4.27	70.88		
	2.51	2.48	4.18	67.16		
	2.50	2.48	4.10	64.51		
	2.49	2.48	4.07	63.74		

注：加入对照品溶液后供试品溶液颜色由黄色变为绿色，0.45 μm 微孔滤膜过滤后亦然

2.1.11　样品含有量测定　取“2.1.2”项下黄芩苷对照品溶液（2）0.4 mL、盐酸小檗碱对照品溶液（2）1.3 mL，置于 5 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤；取“2.1.2”项下黄芩苷对照品溶液（3）1.4 mL、盐酸小檗碱对照品溶液（3）1.2 mL，置于 5 mL 量瓶中，二甲基亚砜定容至刻度，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜过滤，平行 3 份，在“2.1.1”项下色谱条件下进样测定，结果见表 2，可知在以甲醇、二甲基亚砜为溶剂配制的对照品溶液中，各成分含有量均低于理论值。

表 2　黄芩苷、盐酸小檗碱含有量测定结果（$n=3$）

Tab. 2　Results of content determination of baicalin and berberine hydrochloride（$n=3$）

溶剂	黄芩苷理论值/（μg·mL^{-1}）	黄芩苷测得值/（μg·mL^{-1}）	盐酸小檗碱理论值/（μg·mL^{-1}）	盐酸小檗碱测得值/（μg·mL^{-1}）
甲醇	96.77	78.28	150.54	127.33
二甲基亚砜	105.84	92.27	156.24	135.69

2.2　栀子苷含有量测定

2.2.1　色谱条件　Hypersil ODS-2 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.2%磷酸（B），梯度洗脱（0～32 min，10%→24% A；32～42 min，24% A；42～80 min，24%→50% A；80～90 min，50%→52% A）；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 238 nm；进样量 10 μL。

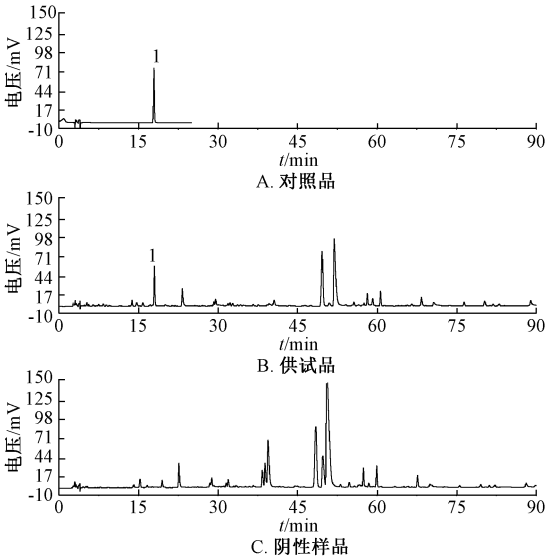
2.2.2　对照品溶液制备　精密称取栀子苷对照品适量，甲醇制成每 1 mL 含 662.0 μg 该成分的贮备液，精密称取适量，甲醇制成每 1 mL 含 70.96 μg 该成分的溶液，即得。

2.2.3　供试品溶液制备　取丸剂适量，研细，精密称取约 0.25 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入

25 mL 甲醇，称定质量，超声 30 min，取出，冷却至室温，甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

2.2.4 阴性样品溶液制备 按处方比例除去栀子，作为阴性样品，按“2.2.3”项下方法制备，即得。

2.2.5 专属性试验 吸取“2.2.2”~“2.2.4”项下溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 2。由图可知，该方法专属性强，阴性无干扰。



1. 栀子苷

1. geniposide

图 2 栀子苷 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of geniposide

2.2.6 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下贮备液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 于10 mL量瓶中，甲醇定容，摇匀，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定。以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为 $Y=1\,002.1X-13.361$（$R^2=0.999\,5$），在 0.132 4~0.794 4 μg 范围内线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 精密吸取“2.2.3”项下供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得栀子苷峰面积 RSD 为 1.89%，表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取样品（编号 S2）适量，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，平行 6 份，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得栀子苷含有量 RSD 为 2.75%，表明该方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取样品（编号 S2）适量，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定，测得栀子苷峰面积 RSD 为 1.47%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取样品（编号 S2）适量，研细，精密称取约 0.125 g，平行 6 份，精密加入栀子苷对照品适量，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表 3。

表 3 栀子苷加样回收率试验结果（$n=6$）

Tab. 3 Results of recovery tests for geniposide（$n=6$）

原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
685.30	681.22	1 391.75	103.70	101.01	3.88
690.25	681.22	1 400.50	104.26		
688.05	681.22	1 390.75	103.15		
685.30	681.22	1 335.50	95.44		
687.50	681.22	1 345.50	96.59		
690.25	681.22	1 391.50	102.94		

2.2.11 样品含有量测定 取 10 批丸剂，每批 2 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表 4。以平均值的 80% 为最低限度，栀子苷含有量应不低于 4.62 mg/g。

表 4 栀子苷含有量测定结果（$n=2$）

Tab. 4 Results of content determination of geniposide（$n=2$）

批号	栀子苷/(mg·g^{-1})	批号	栀子苷/(mg·g^{-1})
S1	5.74	S6	6.56
	5.66		6.25
S2	5.15	S7	6.02
	5.21		6.02
S3	4.76	S8	5.99
	4.58		5.93
S4	6.46	S9	5.26
	6.37		4.95
S5	6.70	S10	5.68
	6.29		5.76

2.3 指纹图谱建立

2.3.1 精密度试验 取样品（编号 S2）1 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，以栀子苷为参照峰，测得 13 个色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 0.63%，相对峰面积 RSD 均小于 2.95%，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取样品（编号 S2）6 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，以栀子苷为参照峰，测得 13 个色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 0.80%，相

对峰面积 RSD 均小于 2.65%，表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取样品（编号 S2）1 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、6、8、12 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，以栀子苷为参照峰，测得 13 个色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 0.27%，相对峰面积 RSD 均小于 2.15%，表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.3.4 共有峰分析 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，得到指纹图谱（图 3），确定 18 个共有峰，其峰面积占总数的 90% 以上。以 4 号峰（栀子苷）为参照峰（S），计算各色谱峰相关保留时间、相对保留峰面积，结果见表 5～6，可知前者 RSD 小于 0.65%，后者为 7.79%～26.98%，表明各批样品中成分种类较稳定，但其含有量有较大差异。

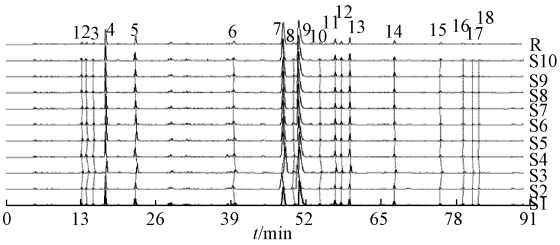


图 3 10 批样品 HPLC 指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprints of ten batches of samples

表 5 共有峰相对保留时间

Tab. 5 Relative retention time of common peaks

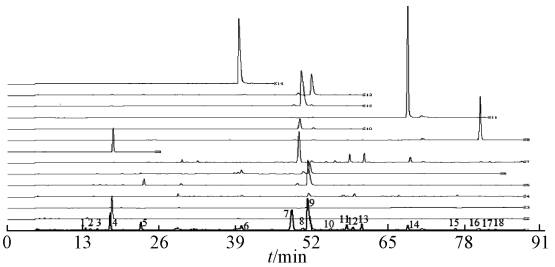
峰号	相对保留时间									
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	0.762	0.763	0.765	0.762	0.764	0.759	0.765	0.762	0.762	0.762
2	0.810	0.807	0.822	0.808	0.818	0.807	0.810	0.808	0.808	0.806
3	0.876	0.875	0.885	0.875	0.882	0.876	0.877	0.875	0.875	0.874
4(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
5	1.297	1.295	1.301	1.296	1.301	1.293	1.294	1.295	1.296	1.294
6	2.285	2.263	2.264	2.282	2.268	2.258	2.265	2.273	2.273	2.274
7	2.769	2.748	2.757	2.769	2.750	2.747	2.759	2.767	2.767	2.764
8	2.881	2.853	2.837	2.882	2.847	2.849	2.861	2.870	2.872	2.871
9	2.929	2.901	2.895	2.933	2.902	2.897	2.906	2.916	2.917	2.920
10	3.130	3.122	3.114	3.136	3.116	3.114	3.122	3.131	3.131	3.132
11	3.282	3.278	3.257	3.289	3.265	3.265	3.274	3.285	3.285	3.287
12	3.341	3.338	3.314	3.349	3.323	3.324	3.334	3.345	3.345	3.347
13	3.425	3.422	3.399	3.434	3.409	3.408	3.419	3.430	3.429	3.432
14	3.867	3.864	3.840	3.877	3.851	3.849	3.858	3.871	3.870	3.875
15	4.321	4.319	4.295	4.334	4.305	4.302	4.312	4.326	4.325	4.332
16	4.548	4.547	4.514	4.560	4.527	4.527	4.539	4.554	4.553	4.560
17	4.640	4.640	4.603	4.653	4.619	4.618	4.630	4.646	4.645	4.652
18	4.702	4.701	4.667	4.715	4.682	4.681	4.692	4.709	4.707	4.715

表 6 共有峰相对峰面积

Tab. 6 Relative peak areas of common peaks

峰号	相对峰面积									
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	0.147	0.130	0.128	0.160	0.152	0.150	0.149	0.140	0.128	0.140
2	0.098	0.099	0.194	0.161	0.152	0.161	0.129	0.128	0.121	0.130
3	0.086	0.094	0.150	0.114	0.114	0.122	0.103	0.106	0.101	0.106
4(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
5	0.559	0.573	0.769	0.669	0.564	0.689	0.617	0.634	0.639	0.640
6	0.309	0.336	0.431	0.241	0.289	0.268	0.212	0.212	0.208	0.203
7	2.399	2.508	4.100	2.951	2.933	3.115	2.750	2.786	2.941	2.907
8	0.138	0.237	0.301	0.205	0.209	0.226	0.178	0.183	0.169	0.190
9	3.735	4.321	4.922	3.409	3.340	3.597	3.646	3.683	4.213	3.720
10	0.098	0.138	0.212	0.157	0.128	0.164	0.150	0.153	0.161	0.156
11	0.333	0.339	0.463	0.388	0.371	0.392	0.363	0.371	0.387	0.379
12	0.180	0.168	0.254	0.202	0.186	0.202	0.191	0.188	0.194	0.193
13	0.411	0.411	0.738	0.525	0.512	0.550	0.471	0.479	0.493	0.492
14	0.319	0.373	0.315	0.225	0.215	0.238	0.285	0.293	0.378	0.294
15	0.131	0.144	0.184	0.151	0.147	0.154	0.145	0.151	0.151	0.155
16	0.177	0.199	0.203	0.138	0.127	0.141	0.156	0.162	0.196	0.159
17	0.059	0.064	0.051	0.044	0.039	0.042	0.053	0.051	0.061	0.051
18	0.072	0.082	0.051	0.048	0.033	0.045	0.055	0.060	0.072	0.057

按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液及除滑石以外其余 6 味药材溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，共确认 7 个色谱峰所含成分，分别为 4 号峰（栀子苷）、6 号峰（盐酸药根碱）、7 号峰（黄芩苷）、8 号峰（盐酸巴马汀）、9 号峰（盐酸小檗碱）、14 号峰（黄芩素）、16 号峰（汉黄芩素），以及 15 个特征峰来源，其中 3 个不能得到归属，其余峰来自栀子（1、4 号峰）、大黄（12、15 号峰）、黄柏（2、3、5 号峰）、黄连（6、8 号峰）、黄芩（7、11、13、14、16 号峰），而 9 号峰归属于黄柏、黄连。见图 4。



注：从上至下，依次为盐酸药根碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、黄芩素、黄芩苷、汉黄芩素、栀子苷、黄芩、黄柏、大黄、川木通、栀子、黄连解毒丸

图 4 共有峰指认

Fig. 4 Identification of common peaks

2.3.5 相似度评价 将 10 批样品指纹图谱导入国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2004A 版）进行色谱峰匹配，测得相似度分别为 0.995、0.990、0.996、0.998、0.997、0.998、1.000、1.000、0.998、1.000，拟规定其应大于 0.900。

3 讨论

文献报道，黄连与包括黄芩、大黄在内的许多中药共煎煮时均有沉淀物产生，而且黄连与黄芩复方煎出液中黄连生物碱、黄芩黄酮含有量下降[11-13]，沉淀物主要由黄连碱、小檗碱、表小檗碱、巴马汀、药根碱、黄芩苷、汉黄芩苷等组成。前期以甲醇为溶剂制备供试品溶液，发现黄芩苷平均加样回收率为 60.38%，RSD 为 5.79%，而盐酸小檗碱分别为 69.25%、7.04%，远低于限度，同时 RSD 较大，不符合相关技术要求，其原因是由于对照品溶液与黄芩苷、盐酸小檗碱发生反应，生成沉淀后被滤去，无法正确评价含黄芩与黄连、黄柏中成药含有量测定的准确度。因此，课题组前期分别以甲醇、二甲基亚砜为溶剂配制黄芩苷、盐酸小檗碱对照品溶液，研究两者发生沉淀反应的规律，发现其含有量均低于加入量。由此可知，测定含黄芩-黄连、黄柏配伍的中成药中黄芩苷、盐酸小檗碱含有量时，无法保证其准确度。

10 批黄连解毒丸中栀子苷平均含有量为 5.77 mg/g，按照平均值的 80% 为最低限度，拟规定其不低于 4.62 mg/g；HPLC 指纹图谱中标定了 18 个共有峰，并将其中 15 个归属到各药材，明确了 7 个所含的化学成分，相似度 0.995～1.000，拟规定其应大于 0.900。根据各共有峰的 t_R（RSD< 0.65%）和相对峰面积（RSD 7.79% ～ 26.98%）可知，10 批样品中成分种类较稳定，但含有量有明显差异，可能是由于所用药材质量不一，也可能是因为黄芩-黄连、黄柏共煎产生的沉淀大部分不能溶于甲醇。今后，课题组将建立一种准确的方法来测定黄连解毒丸中黄芩苷、盐酸小檗碱含有量，并将其应用于三黄片、黄连上清片、黄连上清丸、黄连羊肝丸等制剂[14]的质量控制中。

参考文献：

[1] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编（中成药地方标准上升国家标准部分 内科 脾胃分册）[S]. 2002.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版四部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：374-375.
[3] 王大林. 汉方汤剂中黄连生物碱与甘草、大黄成分的沉淀反应[J]. 国外药学（植物药分册），1981(2)：14-17.
[4] 乔 梁，彭嘉柔，濮训生，等. 黄连-黄芩药对煎煮液沉淀物的分析[J]. 中国中药杂志，1999，24(6)：352-353.
[5] 周卿意骏，张水寒，高 尚，等. 银黄清肺胶囊 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药，2015，46(9)：1314-1320.
[6] 常金花，刘天琪，李 申，等. 元胡止痛片 HPLC 指纹图谱建立及 3 种成分测定[J]. 中成药，2018，40(9)：2011-2016.
[7] 何倩灵，赵 静，谭 琴，等. 芪贞慢咽宁颗粒 HPLC 指纹图谱[J]. 中成药，2018，40(1)：228-231.
[8] 段营辉，戴 毅，高 昊，等. 草珊瑚的化学成分研究[J]. 中草药，2010，41(1)：29-32.
[9] 刘 丹，贾晓斌，郁丹红. 基于“组分构成”理论的中药质量控制新思路[J]. 中国中药杂志，2012，37(6)：865-870.
[10] 聂 燕，汪 滢，赵 璐，等. 中药及其复方指纹图谱的研究新进展[J]. 时珍国医国药，2012，23(12)：3110-3112.
[11] 野口卫. 汉方制剂分析技术[M]. 北京：人民卫生出版社，1986.
[12] 林似兰，赵陆华，吴智南. 大黄、黄连、黄柏、黄芩在复方汤剂中的反应研究——配伍变化对有效成分溶出率的影响[J]. 中草药，1989，20(6)：10-15.
[13] 黄泰康. 中药汤剂研究概况[J]. 中草药，1986，17(7)：35-40.
[14] 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.