

毛细管电泳法定量分析贝母中几种生物碱

赵霞, 陆阳, 陈泽乃*

(上海第二医科大学 化学教研室, 上海 250025)

摘要: 目的 建立毛细管电泳法 (CE) 测定贝母中浙贝乙素、西贝素、西贝苷等生物碱的含量测定方法。方法 以毛细管区带电泳模式, 用内标法分析了 9 种贝母药材中上述生物碱的含量。结果 3 种生物碱分离完全, 并有较好的回收率和重现性。结论 本法快速、简便、高效, 为贝母的质量控制和评价提供了可靠依据。

关键词: 毛细管电泳; 贝母; 浙贝乙素; 西贝素; 西贝苷

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文献编号: 0253-2670(2001)02-0116-03

Quantitative analysis of several alkaloids in *Fritillaria* L. by capillary electrophoresis

ZHAO Xia, LU Yang, CHEN Ze-nai

(Department of Chemistry, Shanghai Second University of Medical Sciences, Shanghai 250025, China)

Abstract Object To develop a method for the quantitative analysis of peiminine, imperialine and imperialine- β -D-glucoside in *Fritillaria* L. by capillary electrophoresis. **Methods** 9 species of bulbous *Fritillaria* L. were analysed with internal standard by the mode of capillary zone electrophoresis. **Results** The 3 alkaloids were separated completely with the method which showed good recovery and reproducibility. **Conclusion** The method was proved to be quick, simple, and efficient, and provided a reliable basis for the quality control and evaluation of this plant medicine.

Key words capillary electrophoresis; *Fritillaria* L.; peiminine; imperialine; imperialine- β -D-glucoside

贝母来源于贝母属 *Fritillaria* L. 植物地下鳞茎, 为常用清热润肺、化痰止咳药。贝母生物碱是其成分, 其中浙贝乙素 (peiminine) 和西贝素 (imperialine, sipeiimine) 属异甾体生物碱。药理实验已证明了浙贝乙素的镇咳镇静作用^[1]和降血压活性^[2]; 西贝素除具有降压、解痉等药理作用外^[2], 最近报道其衍生物具抗胆碱活性^[3]。目前测定贝母生药中单体生物碱含量的方法仅限于薄层扫描法^[4,5]和高效液相色谱法^[6,7]。我们在研究贝母中核苷含量分析^[8]的基础上, 首次运用近年来迅速发展新型分析技术——毛细管电泳法对贝母中的药效成分浙贝乙素、西贝素和西贝苷 (imperialine- β -D-glucoside) 进行含量测定, 与文献报道方法比较具有快速、简便、高效的优点, 为贝母的质量控制和评价提供了一种新的可靠的分析方法

1 仪器试剂和药品

Beckman P/ACE 5510型毛细管电泳仪 (配二

极管阵列检测器), System Gold 软件分析。对照品: 浙贝乙素和西贝苷分别由中国科学院上海药物所劳爱娜教授和吉林中医中药研究院徐东铭教授赠送, 西贝素购自中国药品生物制品检定所, 批号 0767-9403 内标心得安由华北制药厂提供。贝母生药: 浙贝母购自浙江鄞县药材公司, 平贝母购自吉林长春医药公司, 安徽贝母购自安徽霍山县医药商店, 甘肃贝母购自四川成都德仁堂, 暗紫贝母由华西医科大学唐心曜教授提供, 以上贝母均由唐心曜教授鉴定; 伊贝母购自吉林长春左家, 由白求恩医科大学徐景达教授鉴定; 湖北贝母和宁国贝母由安徽医学科学研究所李清华教授提供并鉴定; 梭砂贝母由云南大理医学院马晓匡教授提供并鉴定。甲醇为色谱纯, 其余溶剂均为分析纯, 水为二次重蒸水

2 实验方法和结果

2.1 测定条件: 石英毛细管柱内径 75 μ m, 有效长度 50 cm, 毛细管柱温 25 $^{\circ}$ C; 波长 200 nm; 运行缓

* 收稿日期: 2000-03-16

基金项目: 上海市教委重点学科课题资助

作者简介: 赵霞 (1966-), 女, 江苏常州人, 讲师, 硕士。1985~1990年, 上海医科大学药学院本科生, 1995~1999年, 上海第二医科大学硕士生, 1990年至今, 上海第二医科大学教师。研究方向: 药物化学的研究工作。

冲液为 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH= 2.5), 含 10% 甲醇; 压力进样时间 1 s; 恒定电压 23 kV, 运行电流约 80 μ A; 柱清洗为每次进样前分别用水、缓冲液各冲洗 3 min

2.2 对照品、内标溶液配制和标准曲线绘制: 精密称取浙贝乙素、西贝素和西贝苷对照品适量, 用甲醇分别配成浓度为 4.0, 4.3 和 4.3 mg/mL 的对照品贮备液备用。另称取心得安适量, 用甲醇制成 0.14 mg/mL 的内标溶液。测定时精密移取不同量对照品贮备液, 加等量心得安内标液, 用甲醇定容, 得不同浓度标准系列溶液, 按测定条件检测。以对照品浓度 (X) 为横坐标, 对照品峰面积与内标峰面积比值 (Y) 为纵坐标作回归曲线, 得回归方程:

浙贝乙素 $Y = 3.681X - 0.0224, r = 0.9996,$

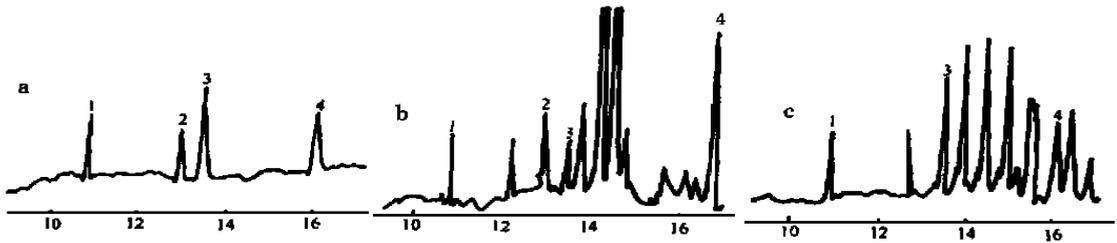
线性范围: 0.200~ 1.20 mg/mL

西贝素 $Y = 9.365X + 0.0127, r = 0.9991,$ 线性范围: 0.215~ 1.29 mg/mL

西贝苷 $Y = 5.960X - 0.0720, r = 0.9995,$ 线性范围: 0.215~ 1.29 mg/mL

2.3 样品测定: 参照文献生物碱的提取方法^[4,5], 精密称取贝母粉 (40目) 5 g, 加氨水 4 mL 使湿润, 过夜, 加入乙醚-氯仿-乙醇 (25: 8: 2.5) 38 mL, 密塞冷浸 24 h。准确吸取上清液 25.00 mL, 蒸干, 加入内标, 甲醇定容至 1 mL, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 滤液稀释后进样测定, 得样品电泳图谱。图 1 为对照品和以浙贝母、平贝母为例的电泳图谱。9 种贝母的全部分析结果见表 1

2.4 精密度试验: 对同一浓度的对照品标准溶液,



a 对照品; b 浙贝母; c 平贝母; 1 心得安; 2 浙贝乙素; 3 西贝素; 4 西贝苷

图 1 贝母的电泳图

表 1 贝母样品中浙贝乙素、西贝素、西贝苷含量测定结果

(%)

样品	浙贝乙素	西贝素	西贝苷
浙贝母 <i>F. thunbergii</i> Miq	0.023 1	0.002 14	-
暗紫贝母 <i>F. unibracteata</i> Hsiao et K. C. Hsia	0.020 6	0.002 59	-
甘肃贝母 <i>F. przewalskii</i> Maxim	0.011 1	0.001 73	-
湖北贝母 <i>F. hupenensis</i> Hsiao et K. C. Hsia	0.106	0.068 2	-
安徽贝母 <i>F. anhuiensis</i> S. C. Chen et S. F. Yin	0.039 5	-	-
梭砂贝母 <i>F. delavayi</i> Franch	-	0.001 60	-
宁国贝母 <i>F. ningguoensis</i> S. C. Chen et S. F. Yin	0.071 2	0.119	-
伊贝母 <i>F. pallidiflora</i> Schrenk	-	0.053 6	0.010 7
平贝母 <i>F. ussuriensis</i> Maxim	-	0.025 6	0.044 9

重复进样 6 次, 测定浙贝乙素、西贝素、西贝苷峰面积与内标峰面积比值, 计算 RSD 分别为 0.8%, 1.1%, 0.9% (n= 6).

2.5 重复性试验: 按上述样品测定方法, 分别测定 6 份浙贝母中浙贝乙素、西贝素和平贝母中西贝苷的含量, 计算 RSD 分别为 3.18%, 2.80%, 3.10% (n= 6).

2.6 加样回收试验: 取已知含量的浙贝母和平贝母, 浙贝母中加入一定量浙贝乙素、西贝素对照品, 平贝母中加入一定量西贝苷对照品, 按以上样品测定方法分别测定浙贝乙素、西贝素、西贝苷的含量, 计算平均回收率 (n= 6) 分别为 95.0%, RSD=

3.52%; 95.7%, RSD= 3.15%; 94.2%, RSD= 2.65%.

3 讨论

3.1 通过实验比较, 中性和弱碱性缓冲液均不能将样品峰分离, 采用酸性的磷酸缓冲液消除了电渗流, 能将样品峰基本分开。加入一定量的有机溶剂作为改性剂, 不但可降低电渗流, 减小离子迁移速率, 提高分离度和选择性, 还能对疏水溶质起到增溶作用。我们在缓冲液中加入 10% 甲醇, 不但使结构极其类似的浙贝乙素和西贝素完全分离, 而且所有贝母样品中的峰均与内标峰完全分开。

3.2 在暗紫贝母和甘肃贝母中测到一定量的浙贝

乙素, 宁国贝母中测到相对多量的西贝素, 以前均未见文献报道, 有待进一步研究确证。西贝素目前仅在平贝母和伊贝母中发现^[9, 10], 本实验结果与之相符。从本研究结果来看, 湖北贝母和宁国贝母中药效成分含量相对较高, 提示有进一步开发应用的价值。

参考文献:

- [1] 钱伯初, 许衡钧. 浙贝母碱和去氢浙贝母碱的镇咳镇静作用 [J]. 药学学报, 1985, 20(4): 306-308.
- [2] 王筠默, 王恒芬, 许长照, 等. 中药研究与文献检索 [M]. 上海: 上海远东出版社, 1994 251-252.
- [3] Rohmna A, Choudhary M, Farooq A, *et al.* Structure-activity relationships of imperialine derivatives and their anticholinergic activity [J]. *Planta Med*, 1998, 64 172-174.

- [4] 李萍, 刘理南, 徐国钧. 12种贝母的西贝素含量测定 [J]. 中草药, 1991, 22(5): 205-206.
- [5] 晁若冰, 胡玲. 高效液相色谱法测定贝母中贝母辛的含量 [J]. 药学学报, 1993, 28(9): 705-708.
- [6] 吴宗好, 李清华. 皖贝母与浙贝母、川贝母有效成分生物碱的对比分析 [J]. 中草药, 1993, 24(7): 351-353.
- [7] 李文彦, 毕开顺, 乔延江, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法测定伊贝母中西贝素的含量 [J]. 中国药学杂志, 1997, 32(6): 363-365.
- [8] 徐汝明, 陆阳, 陈泽乃. 紫外分光光度法测定贝母中腺苷、胸苷含量 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(11): 682-683.
- [9] 徐东铭, 张本, 祁彦, 等. 平贝母生物碱研究 (II) [J]. 中草药, 1983, 14(2): 7-8.
- [10] 徐东铭, 黄恩喜, 王淑琴, 等. 伊贝母生物碱研究 [J]. 植物学报, 1990, 32(10): 789-793.

RP-HPLC法测定大豆提取物中 大豆苷元、染料木素、大豆苷、染料木苷的含量

张立*

(西安天诚医药生物工程有限公司, 陕西 西安 710075)

摘要: 目的 建立 RP-HPLC 法分离检测大豆提取物中大豆苷元、染料木素、大豆苷、染料木苷 4 成分含量的方法。方法 用 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱, 以甲醇-乙腈-0.1% 磷酸 (30: 8: 62) 和甲醇-乙腈-0.1% 磷酸 (16: 24: 60) 为流动相分别测定大豆苷元、染料木素和大豆苷、染料木苷, 检测波长为 254 nm。结果 大豆苷元、染料木素、大豆苷、染料木苷 4 成分的平均回收率分别为 98.7%, 99.5%, 98.4%, 98.6%; *RSD* 分别为 1.4%, 0.9%, 0.9%, 1.7% (*n* = 4)。结论 方法简便、准确、重复性好。

关键词: 大豆苷元; 染料木素; 大豆苷; 染料木苷; RP-HPLC

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)02-0118-03

RP-HPLC determination of daidzein, genistein, daidzin and genistin in soybean extract

ZHANG Li

(Xi'an Tiancheng Drug & Bio-engineering Co., Ltd., Xi'an Shanxi 710075, China)

Abstract **Object** A method for the determination of daidzein, genistein, daidzin and genistin in soybean extract by RP-HPLC was established. **Methods** Zorbax SB-C₁₈ column (4.6 × 15 mm, 5 μm) was used. Daidzein and genistein were separated with mobile phase I: methanol-acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (30: 8: 62). Daidzin and genistin were separated with mobile phase II: methanol-acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (16: 24: 60). The UV detection wavelength was 254 nm. **Results** The average recoveries of daidzein, genistein, daidzin and genistin were 98.7%, 99.5%, 98.4%, 98.6% and the precision (*RSD*) were 1.4%, 0.9%, 0.9%, 1.7% (*n* = 4) respectively. **Conclusion** The method was accurate, rapid and with good reproducibility.

Key words daidzein; genistein; daidzin; genistin; RP-HPLC

异黄酮类成分是植物药提取领域公认的一类重要物质, 具有广泛的药理作用^[1]。此类成分在植物界