

离子对反相 HPLC法测定 10个产地莲子心中莲心碱的含量

寿国香,刘冰,周立红,周军

(天津市药品检验所,天津 300070)

摘要:目的 建立用离子对反相 HPLC法测定莲子心药材中莲心碱含量的方法。方法 选用 ODS色谱柱,流动相为甲醇-水-冰醋酸-辛烷磺酸钠-乙酸钠(55:45:0.6:10 mmol/L:5 mmol/L),检测波长 282 nm,流速为 1.0 mL/min,柱温为 40℃。结果 莲心碱在 0.005~0.146 mg/mL范围内,线性关系良好($r=0.9999$);平均回收率为 100.6%, RSD 为 1.2%($n=6$)。结论 该法准确、快速、灵敏、重现性好,可用于莲子心药材中莲心碱的测定。

关键词: 离子对反相 HPLC法;莲心碱;莲子心

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)11-0989-02

Determination of liensinine in seed of *Nelumbo nucifera* by ion pair RP-HPLC

SHOU Guo-xiang, LIU Bing, ZHOU Li-hong, ZHOU Jun

(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

Key words ion pair RP-HPLC; liensinine; seed of *Nelumbo nucifera* Gaertn.

莲子心为睡莲科植物睡莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn.的成熟种子中的干燥幼叶及胚根,具有清心安神,通交心肾,涩精止血之功效,被历版中国药典所收载。但各版药典中莲子心质量标准均不完善,即使是 2000年版药典中,莲子心质量标准项下也只收载了显微鉴别和一个生物碱的显色反应。莲子心中主要共有的有效成分为莲心碱,此外还含有异莲心碱和甲基莲心碱。关于对莲子心中莲心碱的含量测定,已有薄层扫描法和正相 HPLC法^[1,2],为了进一步完善质量标准,同时也为 2005版药典增加含量测定项作准备,我们采用最常用的 ODS柱,反复筛选了流动相,使莲心碱及其同类成分获得满意的分离,同时对 10个不同产地的莲子心样品,进行了莲心碱的含量测定。

1 仪器及试剂

1.1 仪器:日本 Shimadzu LC-10A高效液相色谱仪,SPD-10AV 紫外可见检测器,CR-7A plus积分仪。

1.2 试剂:甲醇(优级纯),水为双蒸水,其余均为分析纯。

1.3 对照品:莲心碱高氯酸盐,自制,熔点、IR、UV、元素分析均与文献报道一致^[3],经 HPLC归一化法检测纯度达 99.5%以上。

1.4 样品:购自全国各地。

1.5 色谱条件:色谱柱:日本 TOSOH TSK-GEL-

ODS-80TM (10 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm);流动相:甲醇-水-冰醋酸-辛烷磺酸钠-乙酸钠(55:45:0.6:10 mmol/L:5 mmol/L);柱温:40℃;流速:1 mL/min;检测波长:282 nm。

2 实验方法与结果

2.1 溶剂的考察:分别精密称取同一份莲子心细粉各 0.3 g,分别精密加入溶剂 1:氨水-甲醇(2:98) 25 mL;溶剂 2:氨水-氯仿(2:98) 25 mL;溶剂 3:盐酸-甲醇(2:98) 25 mL,并称定重量。分别采用超声处理 4 h,加热回流 4 h处理后,放冷,补足重量,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 10 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μ m微孔滤膜滤过,精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,测定;经比较,采用溶剂 3,加热回流处理方法测得含量最高。

2.2 提取时间的考查:分别精密称取同一份莲子心细粉各 0.3 g(共 3份),分别精密加入盐酸-甲醇(2:98)溶液 25 mL,并称定重量,分别加热回流 1, 2, 4 h,补足重量;分别滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 10 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μ m微孔滤膜滤过,精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,测定。经比较 1, 2, 4 h, 3个时间所测得的含量,基本一致,故采用加热回流 1 h。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备:精密称取莲心碱高氯酸盐对照品适量,加流动相制成每 1 mL含 0.75 mg莲

心碱高氯酸盐的溶液,作为对照品溶液(每 1 mg 莲心碱高氯酸盐相当于 0.736 5 mg 的莲心碱)。

2.3.2 供试品溶液的制备:取莲子心细粉 0.3 g,精密称定,精密加入盐酸-甲醇(2:98)25 mL并称定重量,加热回流 1 h,放冷,补足重量,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系:精密称取莲心碱高氯酸盐对照品 29.2 mg,置 200 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精密量取储备液 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25 mL 分别置 25 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。分别精密量取上述溶液 20 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,以浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,作标准曲线,得回归方程 $Y = 6698.659.95X - 2634.76$, $r = 0.9999$ 表明样品在 0.005~0.146 mg/mL 范围内,线性关系良好。

2.5 重现性试验:取同一产地的样品(湖北洪湖),

按拟定的方法制备 6 份供试品溶液,分别测定莲心碱含量,测得结果平均含量为 1.98%, RSD 为 1.71%。

2.6 精密度试验:取同一样品溶液,重复进样 5 次,测定峰面积值, RSD 为 0.67%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品,分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h 进样,测定含量。结果表明,样品在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率:取同一产地的样品(湖北洪湖,含量为 1.98%),6 份供试品各约 0.15 g,精密称定,分别精密加入 0.507 4 mg/mL 的莲心碱高氯酸盐的盐酸-甲醇(2:98)溶液 5 mL,再精密加入盐酸-甲醇(2:98)20 mL,按供试品溶液的制备法制备溶液并测定,测得平均回收率为 100.60%, RSD 为 1.21%。

2.9 样品测定:分别取 10 个产地的样品,按上述拟定的方法进行试验,测得的结果见表 1。

表 1 各地样品测定结果

产地	1. 湖北洪湖	2. 湖北蕲春	3. 四川乐至	4. 浙江建德	5. 福建古田
含量(%)	1.98	0.36(1.45)	0.31(1.64)	1.39(1.70)	1.27(1.69)
产地	6. 河北白洋淀	7. 江苏南京	8. 山东郯城	9. 湖南(购自广州)	10. 湖南(购自成都)
含量(%)	1.02(1.53)	1.66	0.26(1.50)	1.70	0.36(1.66)

() 内的数字为莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱 3 种成分峰面积以莲心碱高氯酸盐计所得的结果。具有代表性的 HPLC 图谱见图 1。

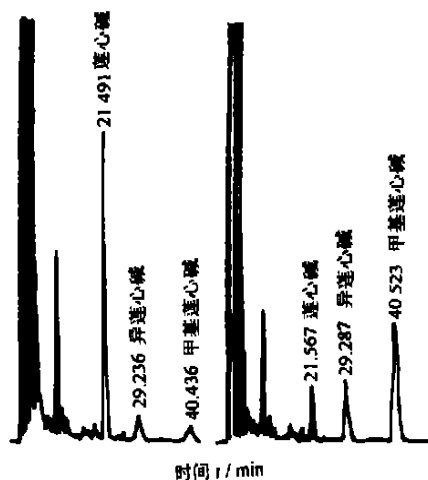


图 1 HPLC 图

3 讨论

① 莲子心中主要共有的有效成分莲心碱的含量相差甚大(0.26%~1.98%)。② 即使是相同产地的莲子心中主要共有的有效成分莲心碱的含量也相差甚大,似乎可以看出,莲心碱的含量的高低与产地无关。是否与栽培品种有关,有待进一步研究。③ 莲子

心中除主要共有的有效成分为莲心碱,此外还含有异莲心碱和甲基莲心碱。通过 HPLC 图谱可以看出,如果莲心碱含量高则其他两种成分含量就低,反之则其他两种成分含量就高,而三者的峰面积总和以莲心碱计基本上在 1.5%~1.7% 左右。④ 据文献报道莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱均为双苄基异喹啉类生物碱,均有降压和抗心率失常的作用^[4],因此单以莲心碱评价莲子的质量似乎欠妥,笔者认为应以三者总和来评价莲子的质量才比较恰当。

⑤ 莲心碱单体不太稳定,而莲心碱高氯酸盐非常稳定,为了便于今后对照品的发放和保存,建议以其作为对照品。⑥ 本文所列出的数据均以莲心碱高氯酸盐计,如以莲心碱计则应乘以系数 0.736 5。

参考文献:

- [1] 胡学民,周本宏,罗顺德,等.薄层扫描法测定莲子心中莲心碱的含量[J].中草药,1992,23(11):575-576.
- [2] 张先洲,胡学民,罗顺德,等.高效液相色谱法测定莲子心中 3 种生物碱的含量[J].药物分析杂志,1997,17(2):110-111.
- [3] 郭毛娣,陈兰费.中国大陆产莲子心中生物碱成分的研究[J].中草药,1984,15(7):291.
- [4] 吕武清,郑海华,葛新.莲子心研究概况[J].中草药,1996,27(7):438-440.