

· 药材 ·

## 麻黄中生物碱类有效成分的非水毛细管电泳含量测定

季一兵,陈玉英,吴如金\*

(中国药科大学,江苏 南京 210009)

**摘要:**目的 利用非水毛细管电泳(NACE)法对麻黄中各生物碱类有效成分进行含量测定,并比较不同提取方法中各组份含量差异。方法 采用 50 mmol/L 醋酸铵的甲醇溶液,未加入任何其他添加剂,检测波长为 210 nm。结果 各组份在 8 min 内达基线分离。伪麻黄碱在 9.8~147.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,去甲基麻黄碱在 6.8~102.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,麻黄碱在 9.4~141.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,去甲基伪麻黄碱在 4.8~72.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,甲基麻黄碱在 6.8~102.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  分别有良好的线性关系。各麻黄碱类回收率在 95.0%~100.4%。结论 为麻黄中各生物碱类有效成分的含量测定提供了一种快速、准确和灵敏的测定方法。

**关键词:**麻黄;麻黄碱类生物碱;非水毛细管电泳;含量测定

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)12-1127-03

### Determination of ephedrine alkaloids in *Ephedra sinica* by nonaqueous capillary electrophoresis

JI Yi-bing, CHEN Yu-ying, WU Ru-jin

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract Object** To develop a rapid method for the determination of ephedrine alkaloids in *Ephedra sinica* Stapf by nonaqueous capillary electrophoresis (NACE) and evaluate the extracting method by determining the amount of alkaloids. **Methods** The buffer contained 50 mmol/L ammonium acetate in methanol without any additives was used. And the detection wavelength was 210 nm. **Results** The best separation result was achieved within 8 min. Linearity was obtained in range of 9.8~147.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  pseudoephedrine, 6.8~102.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for norephedrin, 9.4~141.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for ephedrine, 4.8~72.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for norpseudoephedrine, 6.8~102.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for methylephedrine respectively. The recovery range of these five alkaloids was 95.0%~100.4%. **Conclusion** This method is rapid and accurate for the quantitative analysis of ephedrine alkaloids in *E. sinica*.

**Key words** *Ephedra sinica* Stapf; ephedrine alkaloids; nonaqueous capillary electrophoresis (NACE); quantitative analysis

麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎,始载于《神农本草经》。具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿的功能。为临床上治疗上呼吸道疾患的重要中药材之一。麻黄主要含生物碱,总生物碱含量约为 1.3%,主要有麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、甲基伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱。《中华人民共和国药典》中含量测定方法规定总生物碱不得少于 0.80%。各麻黄生物碱结构相近,两两之间为差向异构体,但药理作用有所差异,有必要建立快速、准确的分离分析方法对各种麻

黄碱类生物碱分别进行测定

自 1990 年 Kennedler 等将毛细管电泳(CE)技术首次用于熊果中的熊果苷等的化学成分分离与测定以来,CE法在天然产物分离分析中的应用得到了迅速发展,分离成分主要包括生物碱、黄酮、苷类、有机酸、香豆素、木脂素、醌类等,国内已有该方面的综述报道<sup>[1]</sup>。本实验首次利用非水介质毛细管电泳(NACE)方法对麻黄中 5 种生物碱进行定量分析,并对不同的提取方法进行对比研究,为分析麻黄中各生物碱含量及优化麻黄提取工艺提供快速、有效

\* 收稿日期: 2003-03-17

作者简介: 季一兵,女,江苏镇江人,讲师,2001 年获得理学博士学位,研究方向为中药质量控制研究和现代仪器分析。

Tel (025) 5391152 E-mail jiyibing@jlonline.com

的方法。

1 仪器与试剂

P/ACE 5500毛细管电泳仪 (美国 BECKMAN 公司),带有二极管阵列检测器 (DAD),system Gold 工作站。

实验所用药材经本校中药学院余伯阳教授鉴定为草麻黄 *E. sinica* Stapf的干燥草质茎 麻黄碱类生物碱标准品均由江苏省药物研究所提供,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯

2 方法与结果

2.1 电泳条件:检测波长 210 nm,毛细管总长 57 cm,有效长度 50 cm,内径 50 $\mu$ m,未涂渍;运行电压 30 kV,压力进样,时间 5 s 缓冲液为 50 mmol/L醋酸铵的甲醇溶液 各类型非水溶液在使用之前均用 0.45 $\mu$ m微孔滤膜滤过

2.2 供试品溶液的制备:称取 0.5 g 麻黄药材粉末,分别用 50 mL 1% 盐酸溶液和水作为提取溶液,用索氏提取法,加热回流 2 h 将提取液滤过后,旋转蒸发至干,再用甲醇稀释至 10 mL 作为供试品液 A 和 B 再取同法得到的酸提取液移入分液漏斗,加入 NaCl 约 1 g,依次加入乙醚 20, 10, 10 mL 萃取,合并醚层,用 15 mL 水洗涤后弃去,洗涤液并入水层,加入浓氨水 5 mL,再依次加入氯仿 20, 10, 10 mL 萃取,合并氯仿层后,旋转蒸发至干,用甲醇定容至 10 mL 得供试品溶液 C

2.3 对照品溶液的制备:分别称取麻黄碱 (E) 11.75 mg, 伪麻黄碱 (PE) 12.25 mg, 甲基麻黄碱 (ME) 9.25 mg, 去甲基麻黄碱 (NE) 8.50 mg, 去甲基伪麻黄碱 (NPE) 6.00 mg, 置于 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,作为对照品储备液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围:精密称取 12.51 mg 萘羟心安,置于 25 mL 量瓶中用甲醇稀释至刻度,作为内标储备液;分别吸取各对照品储备液 0.2, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL,内标储备液 1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,按前述条件分别进行 CE 测定,以各对照品峰与内标峰面积比 ( $A/A_i$ ) 为纵坐

标,浓度  $C(\mu\text{g}/\text{mL})$  为横坐标,得到标准曲线及线性范围,如表 1 所示

表 1 5种生物碱的线性范围

Table 1 Linearity of five alkaloids

生物碱	线性范围		直线方程	r	最低检出浓度
	/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$				/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
PE	9.8~	147.0	$A/A_i = 4.29 \times 10^{-4} + 0.0100 C$	0.999 2	1.96
NE	6.8~	102.0	$A/A_i = 1.33 \times 10^{-3} + 0.0271 C$	0.999 1	0.69
E	9.4~	141.0	$A/A_i = 2.02 \times 10^{-3} + 0.0120 C$	0.999 3	1.50
NPE	4.8~	72.0	$A/A_i = 2.14 \times 10^{-3} + 0.0113 C$	0.999 6	1.58
ME	6.8~	102.0	$A/A_i = 8.00 \times 10^{-3} + 0.0120 C$	0.998 9	1.00

2.4.2 最低检出浓度:按信噪比 ( $S/N$ ) 为 3 计算,得各组份的最低检出浓度见表 1

2.4.3 精密度试验:取中间浓度的各对照品溶液,重复进样 5 次,测得的峰面积比 RSD 平均为 1.2%。

2.4.4 取样品溶液 A 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8 h 进行测定,峰面积比 RSD 为 1.9%。

2.4.5 回收率的测定:称取 0.5 g 麻黄粉,加入 5 mL 标准储备液及内标储备液,按前述酸提法提取,定容,溶液用 0.45 $\mu$ m 滤膜滤过后,进行 CE 分析,结果见表 2 (由于对照品量有限,只进行了主成分 PE 的高、中、低回收率测定)。

表 2 5种生物碱的回收率 ( $n=5$ )

Table 2 Recovery of five alkaloids ( $n=5$ )

组 分	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	RSD /%	
	80%	2.01	1.96	97.51	-
PE	100%	2.45	2.39	97.55	1.76
	120%	2.95	2.89	97.97	-
		1.70	1.67	98.24	2.15
E	2.35	2.36	100.40	1.59	
NPE	1.20	1.14	95.00	2.05	
ME	1.85	1.79	96.76	1.44	

2.4.6 供试品溶液中各生物碱的含量测定:分别精密吸取供试溶液 A, B, C 各 4 mL 及内标储备液 1 mL 置于 3 只 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,溶液均用 0.45 $\mu$ m 滤膜滤过,进行 CE 分析,平行测定 5 份,方法重现性及含量测定结果见表 3 对照品和供试品溶液 A, B, C 电泳图见图 1

3 讨论

3.1 文献报道的各种方法多为测定麻黄碱和伪麻

表 3 5种生物碱含量测定结果 ( $n=5$ )

Table 3 Contents of alkaloids in five alkaloids ( $n=5$ )

供试品溶液	PE		NE		E		NPE	ME	
	含量 /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD /%	含量 /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD /%	含量 /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD /%		含量 /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD /%
A	5.88	1.91	0.12	2.01	0.89	1.76	痕量	0.06	1.36
B	4.99	1.62	0.07	2.32	0.64	1.73	未检出	未检出	
C	5.66	1.79	0.09	2.01	0.82	1.49	未检出	未检出	

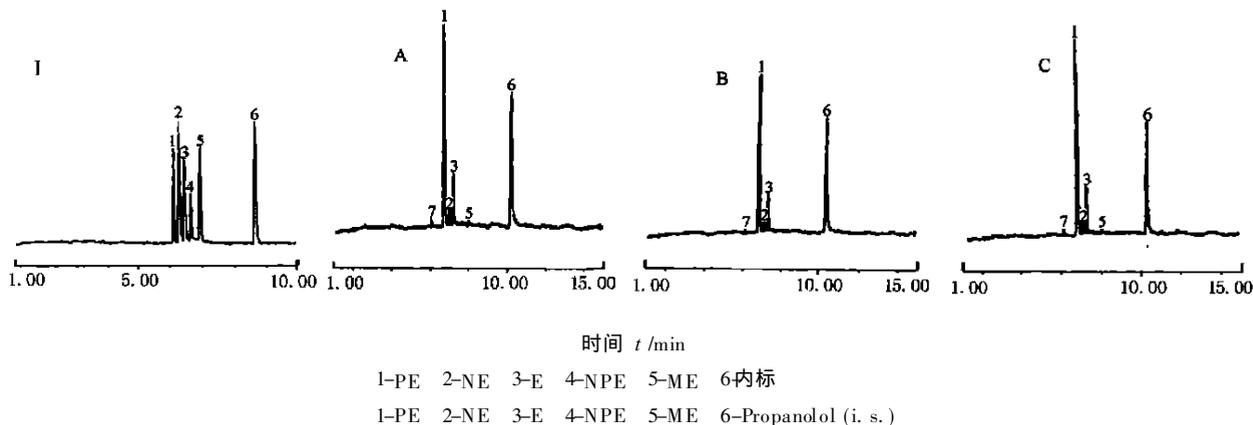


Fig. 1 Electropherograms of reference substances (I) and sample solutions A, B, C

黄碱中一种或两种生物碱含量,而同时分离分析多种麻黄碱类生物碱的方法主要是 HPLC法<sup>[2,3]</sup>和 CE法<sup>[4]</sup>,但前者分离效率低且分析时间较长,前处理步骤繁琐;CE法均采用水溶液系统,需加入多种添加剂,有些添加剂昂贵且不易得,而且添加剂的加入使分离体系复杂,可能会影响样品检测和分离重现性。本文所采用的 NACE法体系简单,分离效率高,适用于药材中麻黄碱类生物碱的含量测定。

3.2 测定条件的选择:通过对有机溶剂的种类和比例,醋酸铵溶液的浓度等条件的摸索,确定了最佳分离条件<sup>[5]</sup>。

3.3 提取条件的选择:总生物碱的溶剂提取方法中可用的溶剂有水-有机溶剂、酸水-有机溶剂、醇-有机溶剂、碱-有机溶剂等,根据麻黄碱自身特点,现多采用前两种溶剂<sup>[6]</sup>,即先用水或酸水提取后,再经过乙醚及氯仿的萃取才能得到。实验结果表明,以主成分伪麻黄碱的提取率为标准,以 1% HCl 溶液为溶剂,中药麻黄的浸提效果最好,本实验中比较了未萃取液(A)和萃取液(C)的各组份含量情况,两者差异没有显著性。由于毛细管电泳自身的优势,如分析高

效、快速、简便,柱不易受污染等,中药提取液不经萃取去除杂质即可直接进行 CE分析,简化操作步骤,使测定回收率提高。

References

[1] Wen Z M, Zhang J L, Xu L M. Application of HPCE to the analysis of traditional herbal drugs [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 141-144.  
 [2] Shao G, Wu F, Wang D S, et al. Quantitative analysis of (1)-ephedrine and (d)-pseudoephedrine in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1995, 30(3): 384-389.  
 [3] Makino Y, Urano Y, Nagano T. Impurity profiling of ephedrines in methamphetamine by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 947(1): 151-154.  
 [4] Liu Y M, Shen S J. Determination of ephedrine alkaloids by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1992, 600: 370-372.  
 [5] Yan X L, Deng X H. Comparative research on extraction method in *Herba Ephedra* [J]. *West China J Med* (华西医学杂志), 1994, 9(4): 265-268.  
 [6] Ji Y B, Chen Y Y, Wu R J. Separation of ephedrine isomers with non-aqueous capillary electrophoresis [J]. *J Chin Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(3): 213-216.

## 杜仲中活性成分的分布及其累积动态变化规律的研究

戚向阳<sup>1</sup>,陈维军<sup>2</sup>,张声华<sup>1\*</sup>

(1. 华中农业大学 食品科学系,湖北 武汉 430070 2 中国化工宁波进出口公司,浙江 宁波 315000)

摘要:目的 研究产地、生长季节及采后处理方式对杜仲皮、叶中 5种主要生物活性成分含量的影响。方法 利

\* 收稿日期: 2003-03-25

基金项目: 湖北省重点攻关课题 (952P0506)

作者简介: 戚向阳 (1968-),女,湖北枣阳,副教授,博士,主要从事天然产物化学与保健功能的研究。

Tel (027) 87282111

E-mail qxiangyang@mail.hzau.edu.cn