

3.1 崔玉菊等^[3]考察了一年、一年半、二年和二年半不同生长年限黄芩中黄芩苷的量,发现黄芩生长一年黄芩苷量达到稳定,不随时间的延长而增加,黄芩产量在一年半时增长最快,以后随着生长年限的延长,产量增加速度减慢;陈宜鸿等^[4]研究发现二年生黄芩中黄芩苷量略高于一年半和三年生黄芩,还发现黄芩生长到第三年以后会出现枯心;笔者研究结果表明二年生黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素总量显著高于一年生黄芩。由以上研究结果可以看出二年生黄芩的产量和有效成分总积累量优于一年生黄芩,二年生黄芩虽产量较一年生黄芩略有增加,但由于枯心的出现,质量也随之下降。鉴于此,故着重对二年生不同生长发育期黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量进行考察。

3.2 《中国药典》2005年版规定黄芩春、秋二季采挖。目前黄芩采收期研究多以月份作为时间尺度对黄芩中黄芩苷量的变化进行考察,但所得出的黄芩最佳采收时间各不相同,如李滨等^[1]研究发现二年生黄芩(产地:哈尔滨师范大学实验园地)黄芩苷的量在8月末果实期最高;徐纪文等^[2]的实验结果表明黄芩(产地:华南植物园)在4月和8~10月黄芩苷量均达到峰值。究其原因是不同产地的黄芩因受气候和土壤等环境因素的影响所致。考虑到中药材内在品质特性和外在物候表现均是各种环境因素综合作用的结果,二者的变化可能存在同步趋势,本研究选择黄芩生长发育期作为时间尺度,考察了黄芩

中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量和总量的动态变化,因此较选择月份作为时间尺度能够更好地揭示黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量和总量的变化规律。中药材采收期蕴含丰富的物候学知识,本研究结果可为今后将植物物候研究技术应用于中药材采收期研究提供一定的参考,但如何将中药材采收期研究与物候学内容相结合则有待于进一步研究。

3.3 对不同流动相体系、检测波长、提取方法和提取溶剂进行了考察,结果显示乙腈-水-甲酸流动相体系所得到色谱图基线较平稳,色谱峰数较多,且分离效果较好;检测波长在280 nm处各色谱峰的吸收强度大,灵敏度高;70%乙醇20 mL超声提取1 h,黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素均能提取较完全。

参考文献:

- [1] 李滨,都晓伟,孙慧峰,等.黄芩栽培质量的动态研究[J].中医药学报,1999(1):45.
- [2] 徐纪文,罗素芳.黄芩中黄芩苷含量的动态变化研究[J].广东药学院学报,2000,16(4):314-315.
- [3] 崔玉菊,斑福志,张洪鹏,等.黄芩生长期对黄芩苷含量及黄芩产量的影响[J].山东医药工业,1996,15(3):53.
- [4] 陈宜鸿,胡璟华.人工栽培黄芩的产地及生长期影响[J].中草药,2006,37(4):614-615.
- [5] 马翠英,戴宝成,林瑞超.黄芩中4种黄酮的HPLC定量分析及其黄酮类成分指纹图谱研究[J].药物分析杂志,2003,23(2):83-86.
- [6] 宋双红,张媛,王喆之.HPLC测定不同产地黄芩中黄酮类化合物的含量[J].中国中药杂志,2006,31(7):598-600.
- [7] 杨娟,傅军鹏.黄芩活性成分及药效研究近况[J].实用医药杂志,2004,21(3):271-273.

HPLC法测定北豆根药材中粉防己碱和青藤碱

李可强¹,刘威²,张振秋^{2*}

(1. 辽宁省中药研究所,辽宁 沈阳 110161; 2. 辽宁中医药大学,辽宁 大连 116600)

摘要:目的 建立北豆根中粉防己碱和青藤碱的定量测定方法,为北豆根质量标准的研究提供科学依据。方法 采用高效液相色谱法测定北豆根中粉防己碱和青藤碱的量。色谱条件为 Diamonsil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),测定粉防己碱采用流动相:甲醇-水-三乙胺(72:28:0.05),检测波长:282 nm;测定青藤碱采用流动相:乙腈-水-三乙胺(21:79:0.05),检测波长:262 nm。结果 线性良好,粉防己碱和青藤碱的平均加样回收率分别为98.8%,101.5%;RSD分别为2.9%,2.0%。结论 本方法精密度高,分离度良好,可用于测定北豆根药材中粉防己碱和青藤碱的量。

关键词:高效液相色谱法;北豆根;粉防己碱;青藤碱

中图分类号:R282.6 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)04-0607-03

收稿日期:2007-09-12

作者简介:李可强(1967—),男,高级工程师,博士生,研究方向为中药质量研究。

E-mail: sylkq@sina.com

* 通讯作者 张振秋 Tel: 0411-87586058 E-mail: zhangzhenqiu@sina.com

北豆根别名蝙蝠藤、山地瓜秧等,系防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* DC. 的根茎。主产于我国东北、华北等地。味苦,性寒,归心肺经,具有清热解毒,祛风止痛之功效,用于咽喉肿痛,肠炎痢疾,风湿痹痛等症^[1]。现代药理研究表明:该植物具有良好的抗炎、抑菌、抗心律失常及抑制肿瘤细胞增殖的作用,其主要有效成分为各类生物碱^[2,3]。已有文献报道,用毛细管电泳高频电导法测定粉防己碱和青藤碱^[4]。但未见用 HPLC 法测定北豆根中粉防己碱和青藤碱的报道,本试验建立了一种简便、快速、准确的 HPLC 测定方法,并对 15 种不同商品地的北豆根药材中粉防己碱和青藤碱进行了测定,为北豆根药材质量标准的研究提供了科学依据。

1 仪器与试剂

日立 U-3010 型紫外可见双光束扫描分光光度计; Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪; G1314-A 紫外检测器; AR2140 电子分析天平; AS3120A 超声波清洗器。青藤碱对照品 (0774-200105)、粉防己碱对照品 (0768-200107),由中国药品生物制品检定所提供;北豆根药材购于各地药店,均经辽宁中医药大学李峰教授鉴定。甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 粉防己碱的测定

2.1.1 色谱条件:色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-三乙胺 (72 : 28 : 0.05), 检测波长: 282 nm; 柱温: 30 °C; 体积流量: 1.00 mL/min; 理论塔板数按粉防己碱峰计算不少于 2 000。色谱图见图 1。

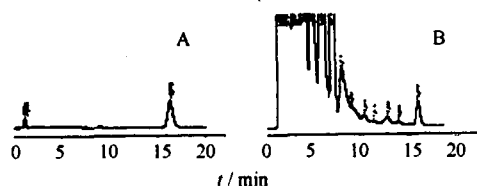


图 1 粉防己碱 (A) 和北豆根药材 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of tetrandrine (A) and *Rhizoma Menispermis* (B)

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取粉防己碱对照品 4.50 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备:精密称取各地药材约 8.0 g,加三氯甲烷 100 mL 及氨水 4 mL,放置 1 h 后加热回流 3 h,滤过,回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,

经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液即为供试品溶液。各地药材均做一平行样。

2.1.4 标准曲线的制备:分别精密吸取粉防己碱对照品溶液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 μL 进样,按上述色谱条件测定,以进样量为横坐标 (X)、峰面积为纵坐标 (Y),绘制标准曲线,得回归方程为: $Y = 701.83 X - 6.08$, $r = 0.999 9$,其线性范围为 0.439~2.195 μg。

2.1.5 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液重复进样 5 次,测定峰面积,结果粉防己碱峰面积 RSD 为 0.5%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液分别在 0、2、4、8、12 h 进样测定,粉防己碱峰面积 RSD 为 2.2%,表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.7 重现性试验:取抚顺购北豆根样品进行 5 次平行试验,粉防己碱的质量分数的 RSD 为 1.2%;表明该方法重现性较好。

2.1.8 加样回收率试验:精密称取已知粉防己碱量的抚顺购北豆根样品 4.0 g 5 份,准确加入粉防己碱对照品溶液适量,依法测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.8%,RSD 为 2.9%。

2.1.9 样品测定:分别精密吸取各地药材供试品溶液 20 μL、对照品溶液 5 μL,进样,以外标法计算供试品溶液中粉防己碱的量,结果见表 1。

2.2 青藤碱的测定

2.2.1 色谱条件:色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-三乙胺 (21 : 79 : 0.05), 检测波长: 262 nm。柱温: 30 °C; 体积流量: 1.00 mL/min; 理论塔板数按青藤碱峰计算不少于 2 000。色谱图见图 2。

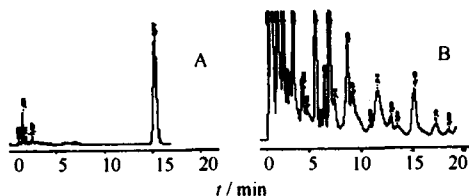


图 2 青藤碱 (A) 和北豆根药材 (B) HPLC 图谱
Fig. 2 HPLC Chromatograms of sinomenine (A) and *Rhizoma Menispermis* (B)

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取青藤碱对照品 3.75 mg,分别置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备:同“2.1.3”项下方法制备。

2.2.4 标准曲线的制备:分别精密吸取青藤碱对照品溶液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 μL 进样,按上述

色谱条件测定,以进样量为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得回归方程为: $Y = 741.1 X - 63.7$, $r = 0.9997$,其线性范围为 $0.3685 \sim 1.8425 \mu\text{g}$ 。

2.2.5 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液重复进样 5 次,测定峰面积,结果青藤碱峰面积 RSD 为 0.9%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液分别在 0、2、4、8、12 h 进样测定,青藤碱峰面积 RSD 为 0.9%,表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.7 重现性试验:取抚顺购北豆根样品进行 5 次平行试验,青藤碱的质量分数的 RSD 为 2.5%,表明该方法重现性较好。

2.2.8 加样回收率试验:精密称取已知青藤碱量的抚顺购北豆根样品 4.0 g 5 份,准确加入青藤碱对照品溶液适量,依法测定,计算回收率,结果平均回收率为 101.5%,RSD 为 2.0%。

2.2.9 样品测定:分别精密吸取各地药材供试品溶液 10 μL 、对照品溶液 5 μL ,进样,以外标法计算供试品溶液中青藤碱的量,结果见表 1。

3 讨论

3.1 粉防己碱、青藤碱在北豆根药材中的量虽少,但药理作用明显,目前尚未见有关采用 HPLC 法检测的文献报道。本试验经方法学考察表明,线性关系、精密度、稳定性、重现性、回收率等均符合分析要求,方法准确,可作为测定北豆根药材中其量的有效方法。

3.2 样品前处理方法的选择:分别以粉防己碱、青藤碱为指标比较了甲醇超声、80% 乙醇回流、三氯甲烷加氨水回流等提取方法,在同批试样的测定结

表 1 15 种北豆根药材中粉防己碱和青藤碱 ($n=3$)

Table 1 Tetrandrine and sinomenine in 15 species of *Rhizoma Menisperm* ($n=3$)

样品号	商品地	粉防己碱/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	青藤碱/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	宜昌	0.0653	0.383
2	锦州	0.0491	0.323
3	亳州	0.0522	0.367
4	石家庄	0.0246	0.298
5	广州	0.1650	0.229
6	大连	0.1460	0.291
7	太原	0.0443	0.376
8	济南	0.1120	0.308
9	武汉	0.0576	0.218
10	北京	0.0118	0.172
11	郑州	0.0972	0.272
12	沧州	0.0416	0.232
13	吉林	0.0538	0.348
14	包头	0.1050	0.296
15	抚顺	0.1330	0.373

果中,粉防己碱分别为:0.021、0.066、0.163 mg/g ;青藤碱分别为:0.096、0.161、0.231 mg/g 。故确定三氯甲烷加氨水回流为最佳提取方法。在此基础上对提取时间进行考察,结果表明,回流提取 3 h 后粉防己碱、青藤碱的量均不再增加。

3.3 本实验结果提示,不同商品地北豆根药材中粉防己碱的量差别很大,在所测定的 15 种供试样品中量最高相差 6.7 倍。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005: 65.
- [2] 刘秀华, 韩福林. 北豆根总碱注射液抗实验性心律失常作用[J]. 黑龙江医药, 2000, 13(3): 160-162.
- [3] 李 铭, 单保恩, 梁文杰, 等. 北豆根提取物抗突变和致突变的实验研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13(6): 411-418.
- [4] 王峻梅, 翟海云, 陈缙光, 等. 毛细管电泳高频电导法测定北豆根药材中粉防己碱和青藤碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(11): 1329-1332.

《中草药》重要启事

从 2008 年第 1 期开始本刊所刊用文章文后的参考文献使用原语种撰写,按照国家标准《文后参考文献著录规则》(GB/T7714-2005)书写。具体参考文献书写示范例见本刊 2008 年第 39 卷第 1 期上刊登的“《中草药》杂志 2008 年投稿须知”。