

甲醇-乙腈水(15:15:70);甲醇-0.5%醋酸溶液(25:75)3种流动相系统进行试验,结果表明采用甲醇-0.5%醋酸溶液(25:75)系统祖师麻甲素色谱峰保留时间适中,与相邻峰的分度度均达到2。

3.2 提取溶剂及提取方式的选择:选用批号为2007-07、070925、071024 3批祖师麻药材,采用水、50%甲醇、甲醇作提取溶剂,分别采用超声提取、加热回流及冷浸过夜3种方法进行提取,以祖师麻甲素和祖师麻乙素峰面积比值进行评价。结果表明,3种溶剂及提取方法比较,所测得二者峰面积之和基本一致,而二者峰面积之差不同。采用甲醇作为提取溶剂,3种提取方法二者峰面积比值基本一致;采用50%甲醇作为提取溶剂,加热回流与超声提取二者峰面积比值基本一致,但低于冷浸过夜的比值;采用水作为提取溶剂,加热回流、超声提取、冷浸过夜3种方法所测比值呈现由低到高递增,2007-07及071024两批药材均未检出祖师麻乙素。

祖师麻甲素是祖师麻乙素的苷元,当后者去除葡萄糖后即变为前者。由此推测,在药材中可能存在一种酶,以水作溶剂提取时,超声提取与冷浸过夜,易发生酶解现象,使祖师麻乙素转化为祖师麻甲素。采用加热回流,热水抑制了酶解现象发生,采用甲醇及50%甲醇作为溶剂,有机溶剂亦可抑制酶解现象的发生。鉴于目前中国药品生物制品检定所尚无祖师麻乙素对照品,因此,选用50%甲醇提取,采用水解方式将祖师麻乙素全部转化为祖师麻甲素后测定质量分数,能够更全面地反映药材中有效成分的量。

选用50%甲醇作为提取溶剂,分别采用超声提取及加热回流两种方式提取,采用10%盐酸作为水

解溶剂,分别采用不同时间进行正交试验测定,比较后采用超声处理方法加热回流水解方式进行。

3.3 测定结果比较:3批黄瑞香平均测定结果为1.53%(1.32%~1.80%);20批甘肃瑞香平均测定结果为1.62%(0.45%~2.90%);7批凹叶瑞香平均测定结果为0.84%(0.14%~1.83%)。3种原植物中以黄瑞香资源较少,量也较为平均;甘肃瑞香最为常见,量较高,但范围跨度较大;凹叶瑞香量较低,仅有1批量较高,最低的仅为0.14%。药材不同部位定量测定表明茎皮中祖师麻甲素的量明显高于根皮中的量。由以上数据可为祖师麻药材的选用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.1977
- [2] 于明,张元君,王明时.祖师麻化学成分的研究[J].中草药通讯,1976,7(10):13-17
- [3] 王明时.祖师麻化学成分的研究(第三报)[J].中草药,1980,11(9):389-390
- [4] 刘国卿,蒋莹,王秋娟,等.祖师麻甲素的药理研究[J].中草药通讯,1977,8(3):21-24
- [5] 甘肃省药品检验所,解放军第十医院.祖师麻有效成分的药理研究[J].中草药通讯,1978,9(2):25-28
- [6] 曲淑岩,姜秀莲,赵学慧,等.瑞香素抗血栓作用[J].药学学报,1986,21(7):498-501
- [7] 南京市立第一医院,南京市鼓楼医院,江苏新医学院第一医院,等.祖师麻甲素临床应用241例总结[J].中草药通讯,1978,9(2):29-30
- [8] 刘广余,饶曼人,梁满达.瑞香素对心血管影响的药理研究[J].中国药理学通报,1987,3(5):274-277
- [9] 姜秀莲,曲淑岩,李伟,等.瑞香素对血清脂质及脂蛋白胆固醇含量的影响[J].药学学报,1987,22(1):53-55
- [10] 张明发,沈雅琴.瑞香素的抗整体小鼠缺氧作用[J].天然产物研究与开发,1994,6(3):21-23
- [11] 沈雅琴,张明发,陈瑞明,等.瑞香素和槐果碱的抗腹泻作用及其机理[J].中国新药杂志,1993,2(4):1-4
- [12] 蒋以号,杨武亮,陈海芳,等.HPLC测定不同基源及不同产地祖师麻中祖师麻甲素[J].中草药,2008,39(7):1096-1098

HPLC 测定不同产地莲子心中莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱

何晓娟^{1,2},孙长海²,于江华²,王俊杰²,高文远^{1*}

(1 天津大学药物科学与技术学院,天津 300072;2 天津红日药业股份有限公司研发中心,天津 301700)

摘要:目的 建立高效液相色谱测定不同产地莲子心药材中3种生物碱的方法。方法 采用高效液相色谱法,Polaris C₁₈-A 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),甲醇-0.1%三乙胺水溶液(62:38)为流动相,检测波长为282 nm,体积流量为1.0 mL/min。结果 3种生物碱平均回收率为莲心碱96.99%,异莲心碱104.26%,甲基莲心碱100.71%;RSD值分别为0.47%、0.21%、0.16%。结论 该方法简便、快速、准确、重现性好,可用于莲子心中3种生物碱的测定。

①收稿日期:2009-08-25

作者简介:何晓娟(1976—),陕西人,在读硕士,药物化学专业。

* 通讯作者 高文远 E-mail: pharngao@tju.edu.cn

关键词: 高效液相色谱法; 莲心碱; 异莲心碱; 甲基莲心碱

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)05-0834-03

莲子是睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的成熟果实, 主要产于湖南、湖北、浙江和江苏等地, 莲子心是其成熟种子中的干燥幼叶及胚根, 又名莲心、蕙、苦蕙、莲蕙。莲子心在我国有着悠久的药用历史,《本草纲目》中记载, 其入心、肺、肾三经, 具有“清心火, 固精血”的功效, 现代药效学实验证实莲子心中生物碱类成分具有抗心律失常作用^[1,2], 对心肌缺血、高血压等心血管疾病有治疗作用, 还具有抗血小板聚集、抗脂质氧化、降血脂^[3]、逆转白血病细胞多药耐药^[4]等作用。莲子心中含有生物碱类、挥发油类、甾醇类、黄酮类以及棕榈油、叶绿素和一些微量元素等, 主要成分为双苜基异喹啉类生物碱, 其提取方法有醇提取法、酸水-有机溶剂提取法、醇-酸水-有机溶剂提取法、碱水-有机溶剂提取法等。对于生物碱检测方法有薄层扫描法、紫外分光光度法、高效液相色谱法, 目前应用较多的是高效液相色谱法^[5,6]。近年来, 对莲子心不同成分药效作用的研究不断取得进展, 其临床应用前景十分广阔, 是一味具有开发前景的心血管药物^[7]。本实验采用高效液相色谱法检测不同产地莲子心中 3 种生物碱的量。

1 仪器与材料

1.1 仪器: Agilent 1200 常规分析型, Polaris C₁₈-A (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 万能粉碎机(天津泰斯特), 超声波(昆山 KQ5200B), 十万分之一天平(赛多利斯 BP211D)。

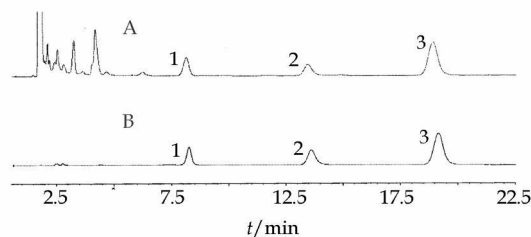
1.2 材料: 高氯酸莲心碱盐对照品(购自中国药品生物制品检定所)、异莲心碱对照品和甲基莲心碱对照品(天津市药品检验所中药室寿国香主任惠赠, 质量分数); 莲子心药材来源于湘潭、襄樊、南京、甄城、乐至、蕲春、白洋淀、洪湖、杭州、建德, 以上 10 个不同产地莲子心药材经天津市药品检验所中药室寿国香主任药师鉴定为莲子心药材; 甲醇为色谱纯; 硅藻土为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[8]: 色谱柱为 Polaris C₁₈-A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1% 三乙胺水溶液(62:38); 检测波长为 282 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温为室温。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 分别精密称取高氯酸莲心

碱盐、异莲心碱和甲基莲心碱对照品各适量制成每毫升甲醇中约含 25、25 和 70 μg 的混合溶液, 即得。



1 莲心碱 2 异莲心碱 3 甲基莲心碱

1-liensinine 2-isoliensinine 3-neferine

图 1 对照品(A)和样品(B)HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

2.3 供试品溶液的制备: 分别取不同产地莲子心药材, 碾成细粉, 取约 0.25 g 精密称定, 各加硅藻土约 0.1 g, 置 25 mL 量瓶中, 加 80% 乙醇约 20 mL, 超声 30 min, 放至室温, 定容至 25 mL, 摇匀, 滤过, 滤液再用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察: 以不同浓度混合对照品溶液依次进样, 进样量为 10 μL, 以质量分数为横坐标, 峰面积为纵坐标分别进行线性回归, 得回归方程: 莲心碱 $Y = 969.585358X - 2.7315068$, $R^2 = 0.99969$; 异莲心碱 $Y = 805.55505X - 0.3424658$, $R^2 = 0.99994$; 甲基莲心碱 $Y = 783.165382X - 1.452054$, $R^2 = 0.99998$ 。结果表明 3 种生物碱分别在 3.868~34.842 μg/mL; 6.016~54.241 μg/mL, 15.584~141.236 μg/mL 呈现良好的线性关系。

2.5 稳定性试验: 取对照品溶液, 分别于 0、4、8、12、16 h 各进样 10 μL, 测定对照品中各生物碱的峰面积, 计算 RSD 值。结果表明莲心碱异莲心碱和甲基莲心碱 RSD 值分别为 0.65%、0.71%、0.37%, 说明在 16 h 内对照品溶液稳定性良好。

2.6 精密度试验: 精密称取甄城莲子心药材粉末 6 份, 按照“2.3 供试品溶液制备”方法制备样品溶液, 分别进样 10 μL, 测定各样品生物碱的量, 计算 RSD 值。结果表明莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱 RSD 值分别为 0.73%、0.58%、0.91%。

2.7 重现性试验: 精密称取甄城莲子心药材粉末 1 份, 按照“2.3 供试品溶液制备”方法制备样品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10 μL, 测定各样品中生物碱量, 计算 RSD 值。结果表明莲心碱、异莲心碱和甲

基莲心碱 RSD 值分别为 0.84%、0.49%、0.57%。

2.8 加样回收率试验:精密称取 6 份甄城莲子心样品各约 0.125 g,分别精密加入对照品溶液各 12.5 mL,再按照“2.3 供试品溶液的制备”方法制备,进样 10 μL,按上述色谱条件测定 3 次,计算各生物碱的平均回收率及 RSD 值。结果 3 种生物碱平均回收率为莲心碱 96.99%、异莲心碱 104.26% 和甲基莲心碱 100.71%;RSD 值分别为 0.47%、0.21%、0.16%。

2.9 样品测定:取不同产地莲子心药材,按照“2.3 供试品溶液的制备”方法制备样品溶液,分别进样 10 μL,结果见表 1。

表 1 不同产地莲子心中莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的测定

Table 1 Detemination of liensinine, isoliensinine, and neferine in *Plumula Nelumbinis* from different habitats

产地	莲心碱/ %	异莲心碱/ %	甲基莲心碱/ %
湘潭	0.32	0.34	0.95
襄樊	0.25	0.50	0.89
南京	1.25	—	—
甄城	0.32	0.36	0.97
乐至	0.29	0.46	0.82
蕲春	0.42	0.41	0.64
白洋淀	0.33	0.36	0.73
洪湖	1.31	—	—
杭州	0.91	0.36	0.19
建德	0.94	0.23	0.23

3 讨论

3.1 不同产地莲子心中 3 种生物碱量差异很大,洪湖和南京产莲子心中异莲心碱、甲基莲心碱几乎检测不出,湘潭和甄城 3 种莲心碱量都比较高。应该

根据项目需要选择合适的莲子心产地。

3.2 根据文献资料建立了简单、准确、可操作性强的莲子心中 3 种生物碱量检测方法。与《中国药典》2005 年版(一部)等所用流动相比较简单,毒性也小一些,3 种生物碱分离度很好。

3.3 混合对照品溶液中异莲心碱、甲基莲心碱结构不稳定,在日光条件下长时间放置成分会破坏,无法标定样品的量,笔者在实验过程中将混合对照品溶液避光,冷藏 1 个月时间各成分量变化不大。建议实验者将混合对照品溶液避光,冷藏保存。

参考文献:

[1] 曾宪武,张卫国,梁 赅,等. 莲子心酚性生物碱的抗心律失常作用[J]. 咸宁学院学报:医学版,2007,21(5):369-372

[2] 王瑞芳,欧来良. 莲子心提取物抗心律失常作用及其急性毒性研究[J]. 中草药,2008,39(3):413-415

[3] 潘 扬,蔡宝昌,杨光明,等. 莲子心降血糖活性部位的筛选研究[J]. 南京中医药大学学报,2005,21(4):243-244

[4] 肖希斌,谢兆霞,陈 杰,等. 甲基莲心碱在 K562/A02 细胞对 ST1571 敏感性中的作用[J]. 中南大学学报:医学版,2005,30(5):558-561

[5] 寿国香,刘 冰,周立江,等. 离子对反相 HPLC 法测定 10 个产地莲子心中莲心碱的含量[J]. 中草药,2001,32(11):989-990

[6] 寿国香,刘 冰,郝连淑. 离子对 RP-HPLC 法测定不同产地莲子心中甲基莲心碱的含量[J]. 中草药,2002,33(6):517-518

[7] 吕武清,郑海华,葛 新. 莲子心的研究概况[J]. 中草药,1996,27(7):438-440

[8] 刘 绍,雷 鹏,李新中,等. 大孔吸附树脂分离纯化莲子心生物碱[J]. 中国中药杂志,2007,32(10):912-915

江西道地药材山蜡梅叶质量标准的研究

李诒光^{1,2},卢建中²,陈 杰^{3*},舒任庚³,卢瑞芝³,祝丰溪³

(1 北京中医药大学,北京 100029; 2 江中药业股份有限公司,江西南昌 330096; 3 江西中医学院,江西南昌 330008)

摘要:目的 研究建立江西道地药材山蜡梅叶的质量标准。方法 采用薄层色谱法建立芦丁和蜡梅碱的鉴别项,采用反相高效液相色谱法建立槲皮素、山柰酚、蜡梅碱的定量测定项。结果 首次建立了山蜡梅叶中芦丁和蜡梅碱的薄层鉴别方法,并首次采用高效液相色谱法建立了槲皮素、山柰酚、蜡梅碱的测定方法,平均回收率分别为 96.55%、98.72%、99.02%。结论 建立的方法操作简便,专属性好,结果准确。

关键词:山蜡梅叶;槲皮素;山柰酚;蜡梅碱;高效液相色谱法

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)05-0836-03

①收稿日期:2009-09-19

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI06A01-01)

作者简介:李诒光(1974—),男,江西赣州人,北京中医药大学在读博士,江中药业股份有限公司研究员,江西中医学院兼职硕士生导师,副主任中医师,长期从事中药质量与开发工作,已发表论文 10 篇。 Tel:(0791)8115036 E-mail:lyg@jzjt.com

* 通讯作者 陈 杰 E-mail:cjesh@tom.com