

苦豆草药材质量标准的研究

冷晓红¹, 马玲², 王俊卿³, 王英华² (1. 宁夏职业技术学院, 银川 750002; 2. 宁夏药品检验所, 银川 750001; 3. 宁夏回族自治区中医研究院, 银川 750006)

摘要 目的: 建立苦豆草药材的质量标准。方法: 采用 TLC 法对苦豆草药材进行定性鉴别; 用 HPLC 法测定氧化苦参碱和槐定碱的含量。结果: 薄层色谱图显示, 氧化苦参碱和槐定碱与其他生物碱分离效果良好, 可以用于苦豆草药材的鉴别; 高效液相色谱中, 氧化苦参碱和槐定碱分别在 25.104 ~ 125.52 μg 和 22.824 ~ 114.12 μg 范围内线性关系良好, 平均加样回收率 ($n=9$) 分别为 96.2% 和 95.9%。结论: 所建立的方法可准地进行定性、定量分析, 可用于苦豆草药材的质量控制。

关键词: 苦豆草; 氧化苦参碱; 槐定碱; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2011)-4-285-4

Study on quality standard of Herba Sophora Alopecuroides

Leng Xiao-hong¹, Ma Ling², Wang Jun-qing³, Wang Ying-hua² (1. Ningxia Vocational and Technical College, Yinchuan 750002; 2. Ningxia Institute for Drug Control, Yinchuan 750001; 3. Ningxia Academy of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750004)

Abstract Objective: To establish the quality standard of Herba Sophora Alopecuroides. **Methods:** The TLC and HPLC methods were used for qualitative identification and quantitative determination of oxymatrine and Sophridine. C_{18} column (4.6 mm \times 250 mm \times 5 μm) was used. The mobile phase consisted of 0.05 mol \cdot L⁻¹ K₂H₂PO₄ solution-acetonitrile (90:10) (2.0 mL \cdot L⁻¹ triethylamine). The UV detective wavelength was 205 nm. **Results:** The identified characteristics of Oxymatrine and Sophridine were distinct and Herba Sophora Alopecuroides could be identified by TLC. In the system of HPLC, the linear range for the content of Oxymatrine and Sophridine were as the of 25.104 ~ 125.52 μg ($r=0.9991$) and 22.824 ~ 114.12 μg ($r=0.9997$). **Conclusion:** The method can be used for the quality control of Herba Sophora Alopecuroides.

Key words: Herba Sophora Alopecuroides; oxymatrine; Sophridine; TLC; HPLC

苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 为豆科槐属植物, 属中旱生植物, 根系发达, 有极好的防沙固沙作用, 同时又是重要的药用植物资源, 具有清热解毒、止痢的功效。用于咽喉肿痛、肺热咳嗽、乙型病毒性肝炎等^[1-3]。其药用部位为花期的干燥地上部分, 称为“苦豆草”; 成熟的果实称为“苦豆籽”。自 20 世纪 70 年代以来, 以苦豆草、苦豆籽为原料提取苦参碱、槐定碱等生物碱, 制成了苦参素胶囊、妇炎栓等制剂, 开始了苦豆子生物碱系列产品的批量生产。苦豆草始载于《中国药典》1977 年版, 但质量标准中只有理化鉴别, 随后各版药典均未收载, 也未见有关苦豆草药材质量研究的报道。本文参考有关文献^[4-6], 采用 TLC 法对苦豆草药材进行定性鉴别, 用高效液相色谱法测定氧化苦参碱和槐定碱的含量, 为药材的质量控制提供了依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

YU-4901 双光束紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); HP1100 高效液相色谱仪 (安捷伦公司); 紫外检测器 (美国科学仪器公司)。

1.2 试药

苦豆草药材 (采于盐池县花马池镇德胜墩自然村等地), 经宁夏药品检验所邢世瑞主任药师鉴定为豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 花期的干燥地上部分; 槐定碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110805-200306); 氧化苦参碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0780-200004); 乙腈、磷酸二氢钾为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

基金项目: 宁夏“十一五”科技攻关项目 (宁科技字【2006】74 号)

作者简介: 冷晓红, 女, 教授。学科及研究方向: 植物药研究与开发。联系电话: 0951-5049263。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

苦豆草的化学成分主要是蛋白质、糖类、有机酸、黄酮类、色素和生物碱。1977 年版《中国药典》收载的苦豆草(鉴别)项为理化鉴别,利用生物碱沉淀试剂反应进行鉴别。本文根据苦豆草生物碱的主要成分为氧化苦参碱、槐定碱等⁽⁷⁾,建立了以氧化苦参碱、槐定碱为对照品,采用薄层色谱法进行鉴别。

2.1.1 槐定碱 取本品粉末 4 g,加浓氨试液 2 mL 浸润 12 h,加入甲醇 20 mL,超声处理 40 min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取槐定碱对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-丙酮-乙酸乙酯(8:3:3)为展开剂,置氨蒸气饱和的层析缸内,展开,取出,晾干,喷以碘化铋钾试液。供试品色谱图中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,结果见图 1。

2.1.2 氧化苦参碱 取氧化苦参碱对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取“2.1.1”项下的供试品溶液及上述对照品溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(5:0.6:0.3) 10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以碘化铋钾试液。供试品色谱图中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,结果见图 2。

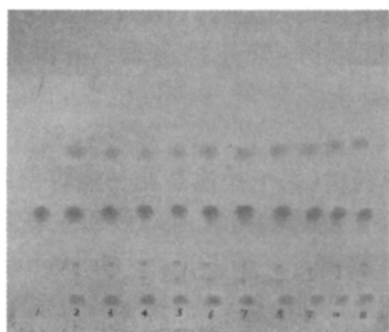


图 1 苦豆草薄层色谱图

1. 槐定碱对照品;2~11. 苦豆草(10 批)

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.05 mol \cdot L⁻¹磷酸二氢钾溶液(2.0 mL \cdot L⁻¹三乙胺)(10:90)为流

动相;检测波长为 205 nm。理论板数按氧化苦参碱峰计算应不低于 4 000。在此色谱条件下,槐定碱、氧化苦参碱的峰之间及与前后峰的分离度均大于 1.5,见图 3。

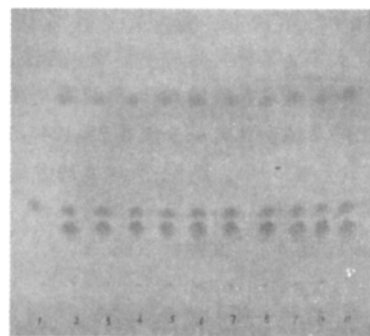


图 2 苦豆草薄层色谱图

1. 氧化苦参碱对照品;2~11. 苦豆草(10 批)

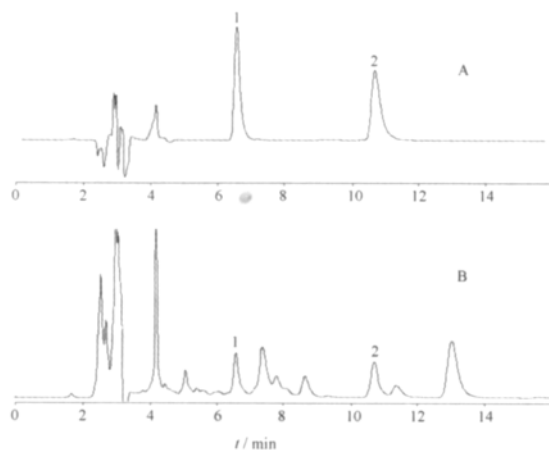


图 3 HPLC 色谱图

A. 对照品(1. 槐定碱;2. 氧化苦参碱);B. 苦豆草

2.2.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取槐定碱、氧化苦参碱对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.12mg 的混合溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 0.5 g,精密称定,置锥形瓶中,加 10% 氢氧化钠溶液 0.5 mL 浸润 12 h 后,精密加入甲醇 20 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 33 kHz) 40 min,放置至室温,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 μ m 的滤膜滤过,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取混合对照品溶液(槐定碱为 11.412 mg \cdot mL⁻¹,氧化苦参碱为 12.552 mg \cdot mL⁻¹) 2, 3, 4, 5, 6, 10 mL,分别置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,测得槐

定碱、氧化苦参碱的峰面积,以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,槐定碱在 22.824 ~ 114.12 μg 范围内有良好的线性关系 ($r = 0.9997$),回归方程为 $Y = 41.778X - 93.592$; 氧化苦参碱在 25.104 ~ 125.52 μg 范围内有良好的线性关系 ($r = 0.9991$),回归方程为: $Y = 40.354X - 265.525$ 。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液 10 μL ,重复进样 5 次,记录色谱图,平均峰面积槐定碱为 1373.0, RSD 为 0.9%; 氧化苦参碱为 1249.7, RSD 为 0.8%。

2.2.6 重复性试验 精密称取同一批样品 6 份,按供试品溶液制备方法制备,依法测定,样品中槐定碱的平均含量为 0.24%, RSD 为 2.6%; 氧化苦参碱的平均含量为 0.37%, RSD 为 2.8%。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,依法方法,每隔 2 小时进样 1 次,结果槐定碱平均峰面积为 1380.4, RSD 为 1.4%; 氧化苦参碱平均峰面积为 1239.9, RSD 为 1.9%,结果表明供试品溶液在 20 小时内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品(槐定碱含量为 0.22%, 氧化苦参碱含量为 0.40%) 9 份,置锥形瓶中,加 10% 氢氧化钠溶液浸润 12 h 后,分别精密加入混合对照品溶液及甲醇各适量至 20 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W, 频率 33 kHz) 40 min,放置至室温,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 μm 的滤膜过滤,即得加样回收的样品溶液,按上述色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1-1 槐定碱加样回收率试验结果

称样量 /g	样品中槐定碱 的量/ μg	对照品加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.2039	448.6	516.5	957.9	98.6		
0.1978	435.2	516.5	936.8	97.1		
0.2085	458.7	516.5	943.1	93.8		
0.3029	666.4	316.6	986.3	101.0		
0.3223	709.1	316.6	1002.3	92.6	95.9	3.5
0.3004	660.9	316.6	976.9	99.8		
0.4141	911.0	206.6	1105.4	94.1		
0.4070	895.4	206.6	1089	93.7		
0.3992	878.2	206.6	1068.1	91.9		

表 1-2 氧化苦参碱加样回收率试验结果

称样量 /g	样品中氧化 苦参碱的量/ μg	对照品 加入量/ μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.1886	754.4	619	1349.2	96.1		
0.1829	731.6	619	1315.0	94.2		
0.1928	771.4	619	1365.6	96.0		
0.2802	1120.7	433.3	1534.8	95.6		
0.2981	1192.5	433.3	1628.7	100.7	96.2	2.6
0.2778	1111.2	433.3	1518.2	93.9		
0.3830	1532.0	247.6	1763.7	93.5		
0.3765	1506.0	247.6	1749.3	98.3		
0.3693	1477.2	247.6	1717.8	97.2		

2.2.9 样品测定 精密吸取供试品溶液与混合对照品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,用外标法测定各样品中槐定碱与氧化苦参碱的含量,测定结果见表 2。

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

分别采用 10% 氢氧化钠溶液浸润 12 h,加入甲醇 20 mL,超声提取 40 min; 10% 氢氧化钠溶液浸润 12 h,加入三氯甲烷 20 mL,超声提取 40 min,滤过,精密量取滤液 10 mL,蒸干,用甲醇溶

解并转移至 10 mL 量瓶中,滤过;10% 氢氧化钠溶液浸润 12 h,加入 65% 乙醇 20 mL,超声提取 40 min 等方法对样品进行提取,结果用甲醇直接提取色谱峰数目多,面积大,分离效果好,因此选用甲醇为提取溶剂。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

编号	样品来源	氧化苦参碱含量 槐定碱含量	
		%	%
1	盐池县花马池得胜墩自然村	0.38	0.29
2	盐池县花马池得胜墩自然村	0.36	0.21
3	盐池县花马池得胜墩自然村	0.37	0.24
4	盐池县花马池得胜墩自然村	0.40	0.22
5	宁夏灵武县	0.29	0.23
6	宁夏灵武县	0.25	0.20
7	宁夏陶乐县	0.22	0.22
8	宁夏陶乐县	0.24	0.20
9	宁夏红寺堡	0.33	0.21
10	宁夏红寺堡	0.30	0.23

3.2 流动相选择

分别选择 0.05 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾-甲醇(83:17); 甲醇-水-三乙胺(55:45:0.2); 甲醇-乙腈-0.02 mol · L⁻¹ 醋酸铵缓冲液(0.5 mL · L⁻¹ 的三乙胺)(5:19:79); 乙腈-0.05 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(2.0 mL · L⁻¹ 三乙胺)(10:90) 等流动相进行检测。结

果以乙腈-0.05 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(2.0 mL · L⁻¹ 三乙胺)(10:90) 为流动相样品的分离效果最佳。

3.3 苦参碱的检测

本实验同时测定了苦豆草中苦参碱的含量,结果药材中苦参碱的含量在 0.01% ~ 0.03% 之间,因含量低,故不作为含量测定指标。

参考文献

- [1] 张清云, 张国荣, 杜盐平, 等. 宁夏苦豆子药用植物资源保护与开发利用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(1): 104-108.
- [2] 尹长安. 干旱荒漠半荒漠地区苦豆子资源状况及开发利用[J]. 干旱资源与环境, 1995, 9(2): 48.
- [3] 廖春燕, 梁健, 杨燕, 等. 苦豆子的药理及应用概述[J]. 中国民族民间医药杂志, 2009, 18(5): 6.
- [4] 古丽娜·沙比尔, 吴韬, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 等. 苦豆子 HPLC 色谱指纹图谱研究[J]. 中药材, 2008, 31(1): 38.
- [5] 宋玉琴, 魏玉辉, 吴新安. RP-HPLC 法测定苦豆子总碱注射液中槐定碱、苦参碱和槐果碱的含量[J]. 兰州大学学报(医学版), 2007, 33(4): 24.
- [6] 布日额, 其其格玛, 东格尔多尔吉. 薄层扫描法测定苦豆子中的苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国民族民间医药杂志, 2005, 8(3): 166.
- [7] 仲仁山. 苦豆子研究及其应用[M]. 宁夏: 宁夏人民出版社, 1983: 5.

HPLC 法测定枸杞子中甜菜碱的含量

方丽¹, 祝明^{2*}, 郑成² (1. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 2. 浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要 目的: 建立枸杞药材中甜菜碱的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 NUCLEODUR Hilic(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 三乙胺(用磷酸调 pH 至 7)(82:18), 流速 0.6 mL · min⁻¹, 检测波长 196 nm。结果: 甜菜碱在 1.737 2 ~ 34.744 μg 范围内线性关系良好, $r=0.999 9$, 平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.5%。结论: 该方法灵敏度高, 结果准确, 可作为枸杞子中甜菜碱的定量测定方法。

关键词: 枸杞子; 高效液相色谱法; 甜菜碱; 含量测定

中图分类号: R921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2011)-4-288-4

Determination of Betaine in Lycium Chinense by HPLC

Fang Li¹, Zhu Ming², Zheng Cheng² (1. College of pharmacy, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine Hangzhou 310053; 2. Zhe-

作者简介: 方丽, 女, 硕士。学科及研究方向: 中药有效成分及质量标准研究。

通讯作者: 祝明, 女, 主任中药师、硕士生导师。联系电话: 0571-86459425。