

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	
		/%	/%
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的槐定碱、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,东格道尔吉.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。

jiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004)

Abstract Objective: To establish the quantitative method of determining the contents of betaine in lycium chinense. **Methods:** The chromatographic column was NUCLEODUR Hilic (4.6 mm × 250 mm 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-0.1% triethylamine, flow rate: 0.6 mL · min⁻¹; column temperature: at 25 °C, and UV detection was performed at 196 nm. **Result:** The linear range was 1.7372 ~ 34.744 μg, the average recovery was 99.5%, and RSD was 1.5% (n=6). **Conclusion:** This method is accurate, reliable as well as specific and can be used to determine the content of betaine in lycium chinense.

Key words: lycium chinense; betaine; determination; HPLC

枸杞子为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实。具有滋补肝肾, 益精明目的功效, 用于虚劳精亏, 腰膝酸痛, 眩晕耳鸣, 内热消渴, 血虚萎黄, 目昏不明。甜菜碱是枸杞果、叶、柄中主要生物碱之一, 在体内起甲基供体作用, 是枸杞中对脂质代谢或抗脂肪肝作用的主要活性物质^[1]。《中国药典》2005 年版枸杞子生品收有甜菜碱薄层色谱法含量测定^[2], 但该方法干扰因素多, 而且温度和湿度对显色影响较大, 重现性差。另有将甜菜碱制成衍生物, 再进行高效液相色谱法 (HPLC) 测定枸杞子中甜菜碱含量的文献报道^[3], 这些方法均不够理想。现通过实践摸索, 采用丙基酰胺键合硅胶为固定相, 进行高效液相色谱法测定枸杞子中甜菜碱的含量, 该方法简便、可靠、准确, 可用于枸杞子药材及其制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪 (DGU-20AS 在线脱气机, SIL-10A 自动进样器, SPD-M20A 二极管阵列检测器, CTO-20A 柱温箱), LC Solution 色谱工作站。

1.2 试剂

甜菜碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110894-200503); 枸杞子样品均由浙江省食品药品检验所鉴定, 来源见表 2; 乙腈为色谱纯试剂, 水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

NUCLEODUR Hilic 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1% 三乙胺溶液 (磷酸调 pH 值至 7) (82:18); 流速 0.6 mL · min⁻¹; 柱温 25 °C; 检测波长 196 nm; 进样量 10 μL。

2.2 供试品溶液的制备

将枸杞子剪碎, 取约 2 g, 精密称定, 置回流瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇

匀, 滤过。精密量取续滤液 10 mL, 过碱性氧化铝柱 (100 ~ 200 目 3 g, 内径 10 ~ 15 mm, 乙醇 20 mL 预洗), 用乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液与原液, 蒸干, 加乙醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取甜菜碱对照品 43.43 mg 至 10 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 制成对照品储备液。精密量取对照品储备液 2 mL 至 25 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀作为对照品溶液。

2.4 系统适用性试验

在上述色谱条件下测定, 结果表明理论板数大于 10 000, 分离度均大于 1.5, 见图 1。

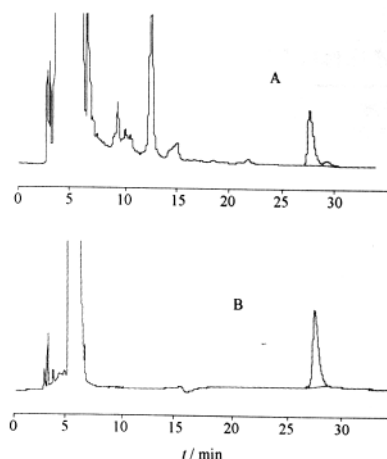


图 1 HPLC 色谱图

A. 供试品; B. 对照品

2.5 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液 (0.174, 0.347, 0.521, 0.869, 1.216, 1.737, 2.606, 3.474 mg · mL⁻¹) 各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以甜菜碱峰面积的积分值为纵坐标, 以进样量 (μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 283\,778.22X + 50\,546.39$ ($r = 0.999\,9$)。结果表明, 甜菜碱在 1.74 ~ 34.74 μg 范围内, 线性关

系良好。

2.6 稳定性试验

按供试品溶液的制备方法制得样品溶液,分别于配制后 0, 1, 3, 5, 10, 15, 25h 进样,测定甜菜碱含量, RSD 值为 2.73%。表明样品溶液在 25h 内稳定。

2.7 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液,连续进样 6 次,测定甜菜碱峰面积, RSD 为 2.17%,表明精密度良好。

2.8 重复性试验

按上述方法,对同一批样品 6 份进行测定,得甜菜碱的平均含量为 0.776% (RSD = 1.32%),表明方法的重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批样品 1 g,分别精密加入甜菜碱对照品溶液(2.605 8 mg · mL⁻¹) 各 2 mL,按“供试品溶液制备”项下操作,平行操作 6 份,按上述色谱条件测定含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

编号	称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.978 9	6.906 9	5.211 6	12.194 8	101.5	99.5	1.5%
2	0.939 2	6.626 8	5.211 6	11.845 1	100.1		
3	0.900 6	6.354 4	5.211 6	11.449 7	97.8		
4	0.908 0	6.406 6	5.211 6	11.523 6	98.2		
5	0.910 8	6.426 4	5.211 6	11.582 1	98.9		
6	1.050 7	7.413 5	5.211 6	12.658 6	100.6		

2.10 样品测定

按拟定含量测定方法对 10 批样品进行测定,计算甜菜碱含量,结果见表 2。

表 2 不同产地枸杞子的含量测定结果

药材产地	批号	甜菜碱含量/%
宁夏中宁	20081020	0.778
宁夏中宁	20081125	0.596
宁夏中宁	20090705	0.721
宁夏银川	20090912	0.832
宁夏中宁	20091011	0.645
宁夏银川	20091110	0.824
宁夏银川	20091008	0.768
宁夏银川(农科院)	20091201	0.634
宁夏固原黑城	20091018	0.744
宁夏中宁	20091117	0.595

3 讨论

3.1 提取方法的选择

本实验考察了回流、索氏提取、超声等提取方法,结果表明回流可提取完全,且操作简便、快捷。并对提取溶剂种类、浓度(甲醇,80% 甲醇,50% 甲醇,乙醇)及溶剂量等因素进行了考察,结果取 2.0g 样品,加 50mL 甲醇回流提取 1 h 最佳。

3.2 纯化条件的选择

本实验曾直接将回流提取液注入液相色谱仪检测,但是甜菜碱峰前后有干扰,不能实现完全分离。

另外还比较了过碱性氧化铝(100 ~ 200 目)和活性炭柱,结果表明过碱性氧化铝柱较好。实验对碱性氧化铝的量、不同洗脱溶剂(乙醇,甲醇,80% 甲醇)及洗脱溶剂的量进行了考察,结果碱性氧化铝(100 ~ 200 目)3 g,乙醇 100 mL 能洗脱完全,并排除了其它峰的干扰。

3.3 测定波长的选择

采用液相色谱 DAD 检测器得到对照品光谱图,甜菜碱最大吸收为 196 nm,故确定检测波长为 196 nm。

3.4 色谱柱的选定

本实验曾采用十八烷基键合硅胶色谱柱(C₁₈),但试验效果不理想,有效成分不能得以分离。根据甜菜碱极性较大的特点选择 Hilic 柱,并且同时考察了 NUCLEODUR Hilic(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),Dikma inertsil Hilic(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),Venusil Hilic(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),实验结果满意。

3.5 流动相的选定

本实验曾使用乙腈与水系统洗脱,但样品不能实现较好的分离。改用了乙腈与三乙胺系统,并且对三乙胺溶液浓度和 pH 值进行比较,考虑对液相色谱柱的维护,综合比较选择以乙腈-0.1% 三乙胺溶液(用磷酸调 pH 至 7)(82:18)为流动相。

采用 HPLC 法测定枸杞子中甜菜碱含量的方法操作简单,准确度高,重复性好,优于薄层色谱扫描法,为中国药典的修订提供了科学依据。

参考文献

- [1] 谢忱,徐丽珍,李宪铭,等. 枸杞子化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(5): 323-324.
- [2] 中国药典. 2005 年版. 一部[S]. 2005: 174.
- [3] 姚少威,宋金春,李玉琴,等. 高效液相色谱法测定复方枸杞颗粒中甜菜碱的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(3): 225-227.

HPLC 法测定板蓝根片中尿苷和腺苷的含量

吴柳春¹, 蒋秋香¹, 齐兆林² (1. 广西柳州食品药品检验所, 柳州 545001; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

摘要 目的: 建立板蓝根片中尿苷和腺苷的 HPLC 含量测定方法, 为提高该制剂质量标准提供科学依据。方法: 色谱柱: Waters Sunfire C₁₈ (4.6 × 250 mm, 5 μm); 流动相为 A(甲醇)-B(水) 梯度洗脱 (0~23 min, A: 4%→20% B: 96%→80%); 检测波长: 260 nm。结果: 尿苷和腺苷分别在 0.010~0.208 μg 和 0.001~0.021 μg 范围内与峰面积呈良好线性关系, *r* 均为 0.999 9; 平均回收率分别为 98.94% 和 99.79%, RSD 值分别为 1.1% 和 2.2%。结论: 该方法简便易行, 具有良好的重复性和稳定性, 可用于板蓝根片质量控制。

关键词: 板蓝根片; 尿苷; 腺苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R921.2

文献标识码: A

文章编号: 1009-3656(2011)-4-291-4

Determination of Guanosine and Andadenosine in Banlangen Tablets by HPLC

Wu Liu-chun, Jiang Qiu-xiang, Qi Zhao-lin (1. Guangxi Liuzhou Institute for Food and Drug Control, Liuzhou 545001; 2. Guangxi Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001)

Abstract Objective: To develop a method for determining guanosine and andadenosine in Banlangen Tablets by HPLC. To improve the preparation to provide the scientific basis for quality standards. **Methods:** Analytical column: Waters SunFire TM C₁₈ (4.6 × 250mm, 5μm); The mobile phase consisted of A (methanol) and B (water) with gradient elution (0~23 min, A: 4%→20% B: 96%→80%); The detection wavelength was at 260 nm. **Results:** The method had good linear relationship within the range of 0.010~0.208μg and 0.001~0.021 μg for guanosine and andadenosine respectively, with the correlation coefficients of 0.999 9, the average recoveries were 98.94% (RSD = 1.1%) and 99.79% (RSD = 2.2%). **Conclusion:** This method was simple, and has good repeatability and stability, and can be used for the quality control of Banlangen Tablets.

Key words: Banlangen Tablets; guanosine; andadenosine; HPLC

板蓝根片收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第三册, 具有清热解毒、凉血、利咽、消肿的功效, 用于扁桃腺炎、腮腺炎、咽喉肿痛、防治传染性肝炎、小儿麻疹等^[1]。板蓝根片为单方制剂, 疗效确切, 临床应用广泛。原标准无含量测定指标, 相关文献报道甚少, 近 10 年来仅有一篇文献报道以含氮量来控制该药质量^[2]。现代药理研究表明, 板蓝根具有抗菌、抗病毒、抗内毒素、增强免疫功能等作用^[3], 其核苷类成分尿苷和腺苷是抗病毒的主要活性成分^[4]。故本实验以尿苷和腺苷为指标成分, 建立板蓝根片中尿苷和腺苷 HPLC 含量测定方法, 结

果满意, 可有效控制板蓝根片的内在质量, 为提高该药质量标准提供实验依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪, UV-2487 检测器, Empower 色谱工作站; UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津)。

1.2 试药

尿苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 887-200001, 供含量测定用); 腺苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 879-200202, 供含量测定

作者简介: 吴柳春, 女, 主管药师。学科及研究方向: 中药质量分析。联系电话: 13978069097。