

# HPLC 同时检测山豆根中苦参碱和氧化苦参碱含量

李 克<sup>①</sup>, 王曙东<sup>②</sup>, 吴龙琴<sup>①</sup>, 汤 溪<sup>②</sup>

**[摘要]** 目的 建立离子交换树脂纯化-HPLC 分析方法用于同时测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱含量。方法 山豆根药材提取液经阳离子交换树脂柱纯化后,以 C<sub>18</sub> 化学键合硅胶为固定相,流动相为乙腈-0.2% 磷酸-三乙胺(8:92:0.01; V/V/V),检测波长 208 nm。结果 在本文建立的分析条件下,苦参碱和氧化苦参碱的色谱保留时间分别约为 5.5 min 和 8.1 min,10 min 内可完成 1 次分离分析过程。苦参碱进样浓度在 1.0 ~ 300.0 μg·ml<sup>-1</sup> 范围与峰面积线性关系良好( $r^2 = 0.9996$ )。氧化苦参碱进样量在 2.0 ~ 600.0 μg·ml<sup>-1</sup> 范围与峰面积线性良好( $r^2 = 0.9998$ )。苦参碱、氧化苦参碱平均测定回收率分别为 90.5% 和 91.6%,方法已应用于同时测定不同产地山豆根药材中苦参碱和氧化苦参碱含量。结论 山豆根样品经纯化分离后,苦参碱、氧化苦参碱与药材中其余内源性物质分离完全,定量准确,方法适用于山豆根药材质量控制及其药品含量检测。

**[关键词]** 山豆根;苦参碱;氧化苦参碱;HPLC;离子交换树脂

**[中图分类号]** R927.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2014)1-055-3

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1008-9926.2014.01.014

## Simultaneous Determination of Contents of Matrine and Oxymatrine in *Sophora tonkinensis* Gagnep. by HPLC

LI Ke<sup>①</sup>, WANG Shu-dong<sup>②</sup>, WU Long-qing<sup>①</sup>, TANG Hao<sup>②</sup>

<sup>①</sup>Department of Laboratory Medicine; <sup>②</sup>Department of Preparations,  
General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China

**[Abstract]** **Objective** To purificate matrine and oxymatrine in *Sophora tonkinensis* Gagnep. by ion exchange resin and to establish a method for determining the two components by RP-HPLC. **Methods** The separation was performed on a C<sub>18</sub> column with a mobile phase composed of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution-triethanolamine (8:92:0.01; V/V/V) after the sample was extracted and purified with ion exchange resin. The detection wavelength was set at 208 nm. **Results** Matrine and oxymatrine had a retention time of approximately 5.5 min and 8.1 min, respectively. The peak shape was clear and symmetrical, and the analysis time was about 10 min per injection. Good linear correlations were observed when the amount of injection ranged from 1.0 to 300.0 μg·ml<sup>-1</sup> for matrine ( $r^2 = 0.9996$ ) and 2.0 to 600.0 μg·ml<sup>-1</sup> for oxymatrine ( $r^2 = 0.9998$ ). The average recovery of matrine and oxymatrine was 90.5% and 91.6% respectively for the *Sophora tonkinensis* Gagnep. samples. **Conclusion** A simple HPLC method has been established and validated for simultaneous analysis of matrine and oxymatrine in *Sophora tonkinensis* Gagnep.

**[Key words]** *Sophora tonkinensis* Gagnep.; matrine; oxymatrine; HPLC; ion exchange resin

山豆根为豆科植物越南槐(*Sophora tonkinensis* Gagnep.)的干燥根和根茎,为常用中药。具有清热解毒,消肿利咽的功效。临床一般用于治疗火毒蕴结、乳蛾喉痹、咽喉肿痛、齿龈肿痛、口舌生疮<sup>[1]</sup>等征。现代中药研究表明,山豆根中含有生物碱、槲皮

素、多糖等多种活性成分<sup>[2]</sup>,其中苦参碱与氧化苦参碱为主要药用活性成分。目前报道测定山豆根中生物碱方法主要有 TLC<sup>[3,4]</sup>、毛细管电泳法<sup>[5]</sup>以及高效液相色谱法(HPLC)等。TLC 限于分离效率和检测灵敏度,一般多用于检测总生物碱或定性检测。毛细管电泳法检测药材时,往往杂质干扰严重。同时定量检测苦参碱和氧化苦参碱应用最广的方法是 HPLC<sup>[6-9]</sup>。但由于山豆根组分复杂,共存物质性质相似,同时定量检测苦参碱和氧化苦参碱时,很难通过液相色谱直接将其与共存物质完全分离。本方法建立了阳离子交换树脂分离纯化-HPLC 同时定量检

**基金项目:** 军队医疗机构制剂标准提高科研专项重点课题, No. 13ZJZ13

**作者简介:** 李 克, 主任技师。研究方向: 药物分析及临床生化。  
Tel: (025)80860182; E-mail: liker1017@163.com

**作者单位:** 210002 江苏南京, 南京军区南京总医院; ① 检验科; ② 制剂科

测山豆根药材中苦参碱和氧化苦参碱方法,为山豆根药材的质量评价和含量检测奠定了方法学基础。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 高效液相色谱仪系统由 Waters 1525 二元泵、Waters 2998 二极管阵列检测器、Waters 717plus 自动进样器及 Empower2 色谱工作站组成(美国 Waters 公司)。TY-80S 恒温振荡摇床(南京大学南达生物技术开发公司),冷凝回流装置、真空泵、微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂)。

**1.2 材料和试剂** 732(001x7)型强酸性阳离子交换树脂(国药集团化学试剂有限公司)。苦参碱对照品(批号:110805-200306,纯度 100%),氧化苦参碱对照品(批号:0780-200004,纯度 100%)均购于中国药品生物制品检定所;甲醇、乙腈为色谱纯级(美国 Tedia 公司);除注明外,实验中其余试剂为分析纯级试剂。实验用水使用去离子水。山豆根药材购自南京药业股份有限公司,经南京军区南京总医院制剂科王玉玺副主任药师鉴定为山豆根干燥根茎。

## 2 方法

**2.1 离子交换树脂预处理** 按参考文献[10]方法,取 732 型阳离子交换树脂 50 g,以 300 ml 去离子水浸泡过夜,多次清洗至去离子水近无色;加入 7% 盐酸溶液 250 ml 浸泡 1 h,并随时搅拌。倾倒溶液,以去离子水洗至近中性后加入 2 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 250 ml 浸泡 1 h,以去离子水洗至近中性;最后加入 7% 盐酸溶液 250 ml 浸泡 2 h 左右,使树脂转为 H 型,并用去离子水洗调节 pH 为 5~6,即可装柱使用。

### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品溶液制备** 精密称取苦参碱、氧化苦参碱对照品各 5 mg,加 80% 甲醇溶解后,分别移至 5 ml 量瓶中,以 80% 甲醇定容至刻度,摇匀,配制对照品储备液(浓度均为 1 mg·ml<sup>-1</sup>),置 4 °C 冰箱避光保存。工作液用储备液以流动相稀释配制。

**2.2.2 样品溶液制备**<sup>[11]</sup> 精密称取经干燥粉碎山豆根粉末(过 10 目筛)约 5 g 于圆底烧瓶中,加 10 倍乙酸溶液(pH=3)浸泡 12 h。加热回流 2 次,每次 1 h,合并提取液。静置,冷却,离心后过滤。取滤液以 0.7 ml·min<sup>-1</sup> 流速通过离子交换柱,至有生物碱反应为止。再用去离子水以 0.7 ml·min<sup>-1</sup> 流速洗至近中性,随后用 2 倍柱体积的 12% 盐酸溶液为洗脱剂,以 0.7 ml·min<sup>-1</sup> 流速洗脱杂质。将柱填充物倾至三角烧瓶中,以 20% 盐酸溶液振荡解吸 1 h,取

5 ml 解吸液水浴蒸干。加 10 ml 流动相充分溶解残渣,微孔滤膜(0.2 μm)过滤后进样测定。

**2.3 色谱条件** 色谱柱:Lichrospher C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)(江苏汉邦科技有限公司)。流动相:乙腈-0.2% 磷酸-三乙胺(8:92:0.01; V/V/V);检测波长:208 nm;流速:1 ml·min<sup>-1</sup>;分离柱温:24 °C;进样体积:20 μl。

## 3 结果与讨论

**3.1 流动相选择** 考察了流动相组成对苦参碱和氧化苦参碱分离保留的影响。结果显示,改变流动相中有机组分的比例,可明显影响苦参碱和氧化苦参碱的色谱保留时间。当乙腈组分减少时,苦参碱和氧化苦参碱的保留时间明显呈延长趋势(图 1),但对色谱峰面积的影响不明显。研究还发现,流动相中加入少量磷酸时,可缩短保留时间;在流动相中加入少量三乙胺可改善色谱峰的对称性和稳定性。综合考虑,实验选择较为适宜的流动相体系为乙腈-0.2% 磷酸水溶液,其二者体积比例为 8:92,三乙胺加入浓度为 0.01%。

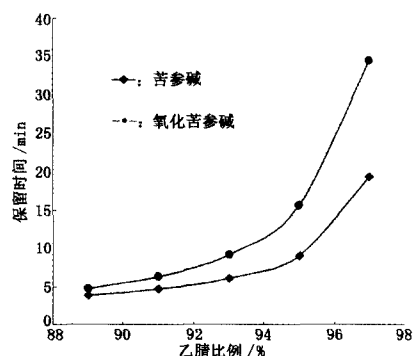
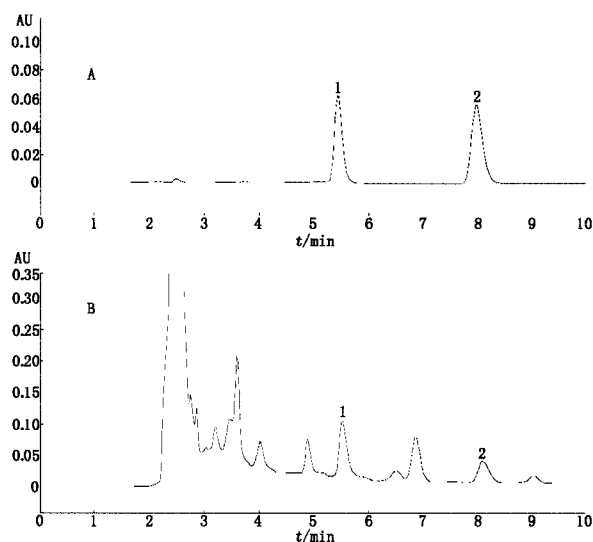


图 1 流动相中乙腈比例变化对苦参碱和氧化苦参碱保留时间的影响

**3.2 系统适应性考察** 在建立的分析条件下,苦参碱及氧化苦参碱的色谱保留时间分别约为 5.5 min 和 8.1 min。山豆根药材提取液中苦参碱及氧化苦参碱成分经阳离子交换树脂分离纯化后,色谱峰形对称,与药材中其余内源性物质分离完全,约 10 min 可完成一次分离分析过程,见图 2。

**3.3 稳定性考察** 精确称取经干燥粉碎山豆根山豆根药材 5 g,按“样品溶液制备”项提取操作,分别在 0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 8.0 和 10.0 h 进样检测,测定峰面积变化以考察样品溶液在检测过程中待测成分的稳定性。结果显示在 0.5~10 h 内苦参碱和氧化苦参碱色谱峰面积变化 RSD 分别为 1.89% 和 1.93%,表明药材提取后供试品溶液在 10 h 内稳定性良好,能够满足测定需要。



A: 对照品溶液; B: 山豆根药材;  
1: 苦参碱(5.5 min); 2: 氧化苦参碱(8.1 min)

图 2 山豆根药材 HPLC 图

**3.4 精密度及重复性** 取苦参碱和氧化苦参碱对照品储备液, 配制成含苦参碱  $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、氧化苦参碱  $20 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  的混合样品重复测定 ( $n = 5$ ), 测定峰面积积分值。结果显示, 苦参碱、氧化苦参碱测定相对标准偏差分别为 1.97% 和 2.00%。取产自山西同一药材, 按“样品溶液制备”项平行制备 5 份同一药材供试品溶液, 按上述条件和方法测定, 分别计算含量。结果显示, 药材中苦参碱和氧化苦参碱含量测定为 2.11 和  $9.73 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 相对标准偏差分别为 1.51% 和 3.99%。

**3.5 线性关系考察** 分别准确配制含苦参碱浓度为 1、25、50、100、200、300  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  和氧化苦参碱浓度为 2、50、100、200、400、600  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  的系列混合对照品溶液, 按本法色谱条件测定。以进样浓度 ( $X$ ) 为横坐标, 峰面积积分值 ( $Y$ ) 为纵坐标, 分别对苦参碱和氧化苦参碱进样线性回归计算。结果显示, 见表 1。

表 1 苦参碱、氧化苦参碱测定线性范围及回归方程

检测物	回归方程	$r^2$	进样浓度范围/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
苦参碱	$Y = 3.80 \times 10^4 X + 1.16 \times 10^4$	0.9996	1.0 ~ 300.0
氧化苦参碱	$Y = 4.23 \times 10^4 X + 3.73 \times 10^4$	0.9998	2.0 ~ 600.0

**3.6 加样回收率** 在已测知含量的山豆根药材中分别加入已知不同量的苦参碱和氧化苦参碱对照品, 按 2.2.2 项下步骤操作测定, 计算苦参碱和氧化苦参碱的测定回收率。结果显示, 苦参碱和氧化苦参碱的平均测定回收率分别为  $(90.5 \pm 2.2)\%$  和  $(91.6 \pm 2.4)\%$  (表 2)。

**3.7 样品测定** 分别称取购自不同产地山豆根药材各 3 份, 按 2.2.2 项下提取制备供试品溶液, 分别测定

表 2 苦参碱和氧化苦参碱加样回收率结果

化合物	样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	$\bar{x}$ / %	RSD/ %
苦参碱	2.127	1.00	3.049	92.2	90.5	2.2
	2.140	1.00	3.075	93.5		
	2.161	2.0	3.931	88.5		
	2.114	2.00	3.902	89.4		
	2.106	3.00	4.851	91.5		
	2.148	3.00	4.791	88.1		
氧化苦参碱	9.808	4.50	13.930	91.6	91.6	2.4
	9.866	4.50	14.105	94.2		
	9.964	9.00	18.451	94.3		
	9.749	9.00	17.984	91.5		
	9.711	13.50	21.686	88.7		
	9.905	13.50	21.961	89.3		

其苦参碱和氧化苦参碱含量。结果见表 3。其中, 产自广东山豆根中苦参碱和氧化苦参碱含量最高。

表 3 不同产地山豆根中苦参碱和  
氧化苦参碱含量测定结果

产地	含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	
	苦参碱	氧化苦参碱
云南	4.19	10.21
广东	8.26	14.29
贵州	5.48	12.95
山西	2.11	9.73

#### [参考文献]

- [1] 国家药典安全委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 25-26
- [2] 何晓艳, 周应军, 田洪. 山豆根化学成分及药理作用研究进展[J]. 中南药学, 2011, 9(7): 525-528
- [3] 丁佩兰, 蒋司嘉, 乔春峰, 等. 苦参碱和氧化苦参碱的分离纯化以及山豆根药材的薄层色谱鉴别[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(5): 333-335
- [4] 康志英, 禹春平. 山豆根的提取工艺研究与探讨[J]. 中药材, 2007, 30(7): 101-102
- [5] 纳鹏君, 毛学峰, 陈平, 等. 山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的胶束毛细管电泳法测定[J]. 分析测试学报, 2003, 22(2): 63-65
- [6] 杨文远, 马丽娟. HPLC 法同时测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱[J]. 中草药, 2004, 35(3): 329-330
- [7] 袁祥慧, 李绪伦. 高效液相色谱法同时测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱含量[J]. 中国药业, 2008, 17(14): 31-32
- [8] 杨帆, 陆娟, 刘春明, 等. 快速溶剂萃取提取山豆根中苦参碱和氧化苦参碱最佳条件研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(7): 495-499
- [9] 郑丽娜, 任海勇, 李素君, 等. 基于急毒的山豆根生物碱类物质质量控制方法学研究[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(9): 516-519
- [10] 高鹏. 离子交换树脂法纯化苦参总生物碱的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 39-41
- [11] 李克, 王曙东, 吴龙琴, 等. 离子交换树脂分离纯化山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的实验研究[J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27(4): 45-48

(收稿日期: 2013-04-01; 修回日期: 2013-11-08)

(本文编辑 孔爱英)

论文降重，论文修改，论文代写加微信:18086619247或QQ:516639237

论文免费查重，论文格式一键规范，参考文献规范扫二维码：



[相关推荐：](#)

[HPLC同时测定云香精中苦参碱和氧化苦参碱含量](#)

[HPLC法测定苦参不同器官氧化苦参碱含量](#)

[HPLC法测定氧化苦参碱的含量](#)

[HPLC法测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量](#)

[HPLC测定苦参碱葡萄糖注射液中苦参碱含量、5-羟甲基糠醛及有关物质](#)

[HPLC同时检测山豆根中苦参碱和氧化苦参碱含量](#)

[HPLC法同时测定三物黄芩汤中苦参碱、氧化苦参碱和氧化槐果碱含量](#)

[HPLC法同时测定氧化槐果碱、槐定碱和苦参碱](#)

[HPLC法测定清热通淋片中苦参碱和氧化苦参碱含量方法的建立及评价](#)

[反相HPLC法测定苦参碱氯化钠注射液中苦参碱含量](#)