

HPLC 测定建莲莲子心生物碱的含量

王晓颖,连贻芳,褚克丹*,徐伟,李蓉
(福建中医药大学药学院,福州 350122)

[摘要] 目的:建立同时测定莲子心中莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱含量的 HPLC 方法,并测定了 10 个不同产地、批次的建莲莲子心生物碱的含量。方法:Platisil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×250 mm,5 μm);流动相乙腈-水(55:45),乙二胺调 pH 9.80;检测波长 282 nm,流速 1 mL·min⁻¹。结果:莲心碱在 3.9~115.9 mg·L⁻¹(*r*=0.999 8)、异莲心碱在 4.0~120.7 mg·L⁻¹(*r*=0.999 8)、甲基莲心碱 9.7~290.2 mg·L⁻¹(*r*=0.999 8) 呈现良好的线性关系。平均回收率分别为 100.24%,99.17%,100.10%,RSD 分别为 0.78%,1.31%,1.40%。福建产的 10 个不同产地、批次的建莲莲子心的莲心总碱的含量多数在 1.50%~2.00%。结论:该方法简便、灵敏、准确、可靠。测定的 10 个产地批次的建莲莲子心中,以产自福建建宁的几何莲子芯茶样品中莲心总碱含量最高,可达 2.28%。

[关键词] 建莲;莲子心;莲心碱;异莲心碱;甲基莲心碱;高效液相色谱法;含量分析

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)22-0117-04

Determination of Alkaloids in Nelumbinis Plumula from Fujian Province by HPLC

WANG Xiao-ying, LIAN Yun-fang, CHU Ke-dan*, XU Wei, LI Rong
(College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] **Objective:** A HPLC method was established for simultaneous determination of liensinine, isoliensinine and neferine in Nelumbinis Plumula and the amounts of alkaloids in Nelumbinis Plumula from ten different areas of Fujian province were determined. **Method:** A Platisil C₁₈ column (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of acetonitrile-water (55:45) (adjusted pH to 9.8 using ethanediamine) at detection wavelength of 282 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The linear ranges of liensinine, isoliensinine and neferine were 3.9-115.9 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 8), 4.0-120.7 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 8), 9.7-290.2 mg·L⁻¹ (*r*=0.999 8) respectively. The average recoveries were 100.24%, 99.17%, 100.10%, and RSD were 0.78%, 1.31%, 1.40% respectively. Most of the amounts of total alkaloids in Nelumbinis Plumula from ten different areas of Fujian Province were 1.50-2.00%. **Conclusion:** The method is simple, sensitive, accurate and reliable for the determination of three alkaloids in Nelumbinis Plumula. The amount of total alkaloids in Nelumbinis Plumula named Jihe from Jianning was 2.28% and it was the highest in the ten samples.

[Key words] Nelumbinis Semen of Fujian; Nelumbinis Plumula; liensinine; isoliensinine; neferine; HPLC; determination

莲子心为睡莲科植物莲成熟种子中的干燥幼叶和胚根,具有清心安神、交通心肾、涩精止血之功

[收稿日期] 20110922(005)
[基金项目] 福建省高校产学研合作科技重大项目(2010Y4004);福建省科技计划项目(2010Y2004)
[第一作者] 王晓颖,硕士,讲师,从事中药制剂工艺与质量控制研究,Tel:13951871686,E-mail: wangxy623@yeah.net
[通讯作者] *褚克丹,主任中药师,博士研究生导师,从事中药制剂及质量控制研究,Tel:0591-22861661,E-mail:chukd5917@163.com

效^[1]。药理研究表明,其具有较好的抗心律失常、降压、抗血小板聚集等作用^[2-4]。福建种植莲子历史悠久,由于其质量好,冠以“建莲”之称^[5]。建莲莲子心作为药食两用的佳品已有广泛应用,其主要含有生物碱类成分,如莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱等^[6]。本研究建立了 HPLC 测定莲子心中生物碱含量的方法,并对 10 个不同产地、批次的建莲莲子心生物碱的含量进行分析。

1 材料

SPD-10AVP 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),4802 型紫外-可见分光光度计(上海 UNIC 公司),超声波清洗器(昆山仪器厂),FA2004N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱对照品(上海顺勃生物工程有限公司,批号 LXJ-2011-05)。乙腈、甲醇(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司)。水为娃哈哈饮用纯净水(浙江杭州娃哈哈有限公司),其他试剂为分析纯。

莲子心购于福建各地,经福建中医药大学中药鉴定教研室杨成梓副教授鉴定为正品莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 种子中的干燥幼叶和胚根。

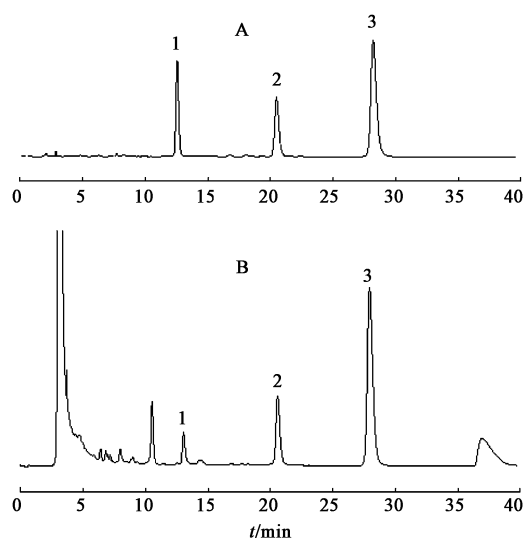
2 方法与结果

2.1 检测波长的选择 用紫外-可见分光光度计于 190~400 nm 扫描,莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱混合对照品溶液在 282 nm 处有最大吸收,与《中国药典》一致,因此以 282 nm 为检测波长。

2.2 色谱条件与系统适用性试验 Platisil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(55:45),乙二胺调 pH 9.80,检测波长 282 nm,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。此条件下,莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱理论板数均不低于 6 000,莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱峰分离度均>1.5,并且峰形较好,对照品及供试品色谱图见图 1。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取莲心碱对照品 4.83 mg,异莲心碱 5.03 mg,甲基莲心碱 8.06 mg 分别置 5 mL 量瓶中,加甲醇适量使溶解,并加甲醇稀释至刻度,即得 0.97 g·L⁻¹的莲心碱对照品溶液、1.01 g·L⁻¹异莲心碱对照品溶液、1.61 g·L⁻¹的甲基莲心碱溶液。分别精密吸取以上莲心碱对照品溶液 2 mL、异莲心碱对照品溶液 2 mL 及甲基莲心碱对照品溶液 3 mL 置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释定容至刻度,即得莲子心生物碱混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取不同产地的莲子心粉末(过 60 目筛)约 0.1 g,精密称定,置于具塞锥形



A. 混合对照品;B. 样品;
1. 莲心碱;2. 异莲心碱;3. 甲基莲心碱

图 1 莲子心 HPLC

瓶中,加 10 mL 甲醇,称重,冷浸 30 min 后超声 30 min,放冷后称重,用甲醇补足质量。吸取上清液,用 0.22 μm 的微孔滤膜滤过,备用。

2.5 线性关系考察 分别精密吸取莲子心生物碱混合对照品溶液 0.1,0.2,0.5,0.7,1,2,3 mL 分别置 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得到系列浓度对照品溶液。分别精密吸取 20 μL 注入高效液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积(*Y*)为纵坐标,分别以莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱对照品的质量浓度(*X*)为横坐标,进行回归分析,得回归方程为:
 $Y_{\text{莲心碱}} = 15\,257X + 6\,245.9$ ($r = 0.999\,8$);
 $Y_{\text{异莲心碱}} = 14\,295X - 9\,205.2$ ($r = 0.999\,8$);
 $Y_{\text{甲基莲心碱}} = 15\,393X + 18\,198.0$ ($r = 0.999\,8$)。莲心碱在 3.9~115.9 mg·L⁻¹、异莲心碱在 4.0~120.7 mg·L⁻¹、甲基莲心碱在 9.7~290.2 mg·L⁻¹ 呈现良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一莲子心生物碱混合对照品溶液 20 μL,按 2.2 色谱条件下,连续进样 6 次,测定峰面积,结果莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱 RSD 分别为 0.35%,0.51%,1.94%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取闽江源贡莲 2 号莲子心粉末 6 份,按 2.4 项下方法操作,在上述色谱条件下,各取 20 μL 进样,测定峰面积。计算得莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱的平均含量分别为 0.29%,0.32%,1.13%,RSD 分别为 1.87%,1.80%,1.07%。结果表明该方法重复性好。

2.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 20 μL,按上述色谱条件,分别于制备后 0,4,8,12,16,

20,24 h 进样,测定峰面积。计算得莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱 RSD 分别为 0.95%,0.98%,1.90%,表明溶液中莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱在 24 h 内稳定。

2.9 回收率试验 称取已知含量的莲子心粉末(莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱含量分别为 0.21%,0.29%,0.98%)0.05 g,精密称定,共 6 份,分别精密加入已知含量的莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱对照品溶液,每份按 2.4 项下方法操作,在上述色谱条件下,各取 20 μL 注入高效液相色谱仪,测定,计算平均回收率,结果见表 1。

2.10 样品含量测定 分别精密吸取各供试品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,记录色谱峰面积,计算莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱的含量。10 个不同产地、批次的莲子心中莲心碱、异莲心碱及甲基莲心碱的含量测定结果见表 2。

3 讨论

文中所用高效液相色谱法使用了耐碱的色谱柱及碱性流动相,避开了离子对色谱法对色谱柱的伤害,能够使莲子心中莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱成分成其他成分达到很好的分离,且该方法简单、灵敏度高、重复性好、保留时间稳定,为莲子心药材及

表 1 3 种成分加样回收率试验						
测定成分	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
莲心碱	0.103 7	0.096 6	0.200 6	100.31	100.24	0.78
	0.105 0	0.096 6	0.200 4	98.76		
	0.103 5	0.096 6	0.200 7	100.62		
	0.106 2	0.096 6	0.203 5	100.72		
	0.103 1	0.096 6	0.200 6	100.93		
	0.105 0	0.096 6	0.201 7	100.10		
异莲心碱	0.144 2	0.150 9	0.293 4	98.87	99.17	1.31
	0.145 9	0.150 9	0.293 3	97.68		
	0.143 9	0.150 9	0.294 1	99.54		
	0.147 6	0.150 9	0.296 5	98.67		
	0.143 4	0.150 9	0.296 6	101.52		
	0.145 9	0.150 9	0.294 9	98.74		
甲基莲心碱	0.496 4	0.483 6	0.979 5	99.90	100.10	1.40
	0.502 3	0.483 6	0.989 3	100.70		
	0.495 4	0.483 6	0.982 5	100.72		
	0.508 2	0.483 6	0.980 8	97.73		
	0.493 4	0.483 6	0.986 2	101.90		
	0.502 3	0.483 6	0.984 2	99.65		

表 2 不同产地批次建莲莲子心中生物碱的含量测定

%

No.	样品名称	产地	批号	莲心碱	异莲心碱	甲基莲心碱	莲心总碱
1	文鑫建莲 1 号	福建建宁	20110120	0.14	0.43	1.04	1.61
2	文鑫建莲 2 号	福建建宁	20101029	0.17	0.43	1.11	1.71
3	闽江源贡莲 1 号	福建建宁	20110402	0.13	0.43	1.11	1.67
4	闽江源贡莲 2 号	福建建宁	20110214	0.28	0.32	1.14	1.74
5	永辉莲子心	福建	20110407	0.14	0.44	1.37	1.95
6	国医堂回春 1 号	福建	20100407	0.21	0.29	0.98	1.48
7	国医堂回春 2 号	福建	20110228	0.27	0.34	1.25	1.86
8	建瓯土产	福建建瓯	20110331	0.05	0.54	1.14	1.73
9	莆田土产	福建莆田	20110508	0.01	0.47	1.07	1.55
10	几何莲子芯茶	福建建宁	20110304	0.13	0.62	1.53	2.28

注:莲心总碱以莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱含量之和计。

制剂的质量控制提供了一个可靠、稳定的方法。

经测定,福建产的 10 个不同产地、批次的建莲莲子心的莲心总碱(以莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱含量之和计)的含量大多数在 1.50% ~ 2.00%,其中产自福建建宁的几何莲子芯茶样品中莲心总碱含量最高,可达 2.28%。

在所测的建莲莲子心样品中的部分样品莲心碱

含量偏低,尤其是从福建民间购买的建瓯土产和莆田土产的莲子心样品,可能由于莲的传统种植方法致使种质退化或炮制方法不同,影响莲子心中莲心碱的含量,但其异莲心碱及甲基莲心碱的含量很高。

在对莲子心进行含量检测时,大多数情况下仅以莲心碱含量作为莲子心质量控制的指标,而莲子

野菊花药材 HPLC 指纹图谱

林丽美^{1,2},李春³,刘塔斯¹,许招懂²,刘菊妍⁴,廖端芳^{1*}

(1. 湖南中医药大学,长沙 410208; 2. 广州星群(药业)股份有限公司,广州 510288;

3. 中国中医科学院中药研究所,北京 100700; 4. 广州医药集团有限公司,广州 510130)

[摘要] 目的:建立野菊花药材的指纹图谱,为野菊花药材的质量控制提供依据。方法:采用 HPLC,Agilent Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,以乙腈-1.0% 醋酸水为流动相梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 290 nm,柱温 30 ℃,进样 10 μL。结果:建立了 16 批野菊花药材的指纹图谱,选择 11 个野菊花样品作为标准药材,标准药材有 16 个共有峰,多数峰可以达到较好分离,具有较高的相似度。结论:建立的高效液相指纹图谱有较好的精密度、重复性和稳定性,可作为野菊花质量评价参考。

[关键词] 野菊花; 高效液相色谱; 指纹图谱; 质量控制

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)22-0120-04

HPLC Fingerprint of *Chrysanthemum indicum*

LIN Li-mei^{1,2}, LI Chun³, LIU Ta-si¹, XU Zhao-dong², LIU Ju-yan⁴, LIAO Duan-fang^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Guangzhou Xingqun Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510288, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

4. Guangzhou Pharmaceutical Holdings Ltd., Guangzhou 510130, China)

[Abstract] Objective: To establish HPLC fingerprint of *C. indicum* to provide the basis for the standards of quality control and identification of the Chinese crude drug. Method: The HPLC method was used on an Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column with acetonitrile-0.1% acetic acid as mobile phase by

[收稿日期] 20120615(403)

[基金项目] 湖南省科技厅项目(2011FJ7008);湖南省教育厅项目(11C0958);湖南省十二五重点学科药科学学科项目

[第一作者] 林丽美,副教授,博士,从事中药药效物质基础及质量标准化研究,Tel: 0731-88458232, E-mail:lizasmile@163.com

[通讯作者] *廖端芳,教授,博士,博士生导师,从事中药心血管药理及新药研究,Tel: 0731-88458002, E-mail:dfliao66@yahoo.com.cn

心中异莲心碱、甲基莲心碱同样具有明确的药理作用^[2,7]。如果能以莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱的含量共同评价莲子心的质量,则莲子心将能得到更全面的评价。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010;256.
[2] 曾建伟,吴锦忠,张书娟.莲子心药学研究进展[J].福建中医学院学报,2005,15(增刊):40.
[3] 张京梅,李鹏跃,王岚,等.莲子心总生物碱的提取分离及药效学初步研究[J].中国实验方剂学杂志,

2009,15(6):26.

[4] 刘萍,黄颖,胡本容,等.甲基莲心碱对大鼠肝 CYP450 酶含量及 CYP2D1,CYP3A1,CYP2E1 mRNA 的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(10):161.
[5] 杨成梓,葛培盛,陈丽艳,等.建莲子的本草考证[J].现代中药研究与实践,2004,18(3):24.
[6] 宋金春,李娟,叶鹏.正交试验法优选莲子心中甲基莲心碱提取工艺的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):18.
[7] 商品,潘扬.近年来异莲心碱化学和药理的研究进展[J].南京中医药大学学报,2010,26(3):238.

[责任编辑 顾雪竹]