

# 高效液相色谱测定莱菔子总碱中 芥子碱硫氰酸盐含量

蒋海强<sup>1</sup>, 丁臻<sup>2</sup>, 周洪雷<sup>1\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 安徽省亳州市人民医院, 安徽 亳州 236800)

**[摘要]** 目的: 建立莱菔子总碱中芥子碱硫氰酸盐的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以乙腈-0.08 mol·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液(12:88)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup> 进行检测。结果: 芥子碱硫氰酸盐线性范围为 0.482~2.892 μg, 平均加样回收率 103.63%。结论: 该法快速、简便, 结果准确、可靠, 可用于莱菔子总碱中芥子碱硫氰酸盐的测定。

**[关键词]** 莱菔子总碱; 芥子碱硫氰酸盐; 高效液相

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0078-03

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120704.1742.028.html>

**[网络出版时间]** 2012-07-04 17:42

## Determination of Sinapine Cyanide Sulfonate in Semen Raphani Total Alkaloids by RP-HPLC

JIANG Hai-qiang<sup>1</sup>, DING Zhen<sup>2</sup>, ZHOU Hong-lei<sup>1\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. People's Hospital of Bozhou City, Bozhou 236800, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the method for content determination of sinapine cyanide sulfonate in Semen Raphani total alkaloids. **Method:** The determination was carried out with HPLC, acetonitrile-H<sub>2</sub>O-0.08 mol·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (12:88) as the mobile phase at a flow rate 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** The linear range of Sinapine cyanide sulfonate was 0.482-2.892 μg and the average recovery was 103.63%. **Conclusion:** The method is rapid, simple, accurate and reliable in results, and suitable for the determination of sinapine cyanide sulfonate in Semen Raphani total alkaloids.

**[Key words]** Semen Raphani total alkaloids; sinapine cyanide sulfonate; HPLC

莱菔子为十字花科植物萝卜的干燥成熟种子, 具有下气、化痰、消食的作用<sup>[1]</sup>。莱菔子含有莱菔素、芥子碱、芥酸等, 其水溶性生物碱有较强的降压

作用, 其中芥子碱硫氰酸盐是降压的有效成分<sup>[2]</sup>。本研究通过纯化精制莱菔子水溶性生物碱, 对芥子碱硫氰酸盐进行了含量测定研究, 以期控制莱菔子总碱质量。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器(美国安捷伦科技有限公司), QC225 型超声波清洗器(上海超声波仪器厂), DT-100 型分析天平, ES-J120 型电子天平, 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 电热干燥箱(重庆实验设备厂)。LD4-2A 型低速离心机(北京医用离心机厂)。

莱菔子总碱(自制), 甲醇、乙腈(色谱纯, 天津

**[收稿日期]** 20111018(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072794/H2708); 山东省科技发展计划项目(2008GG2NS02011); 国家科技重大专项(2009ZX09301-013); 山东省自然科学基金项目(ZR2010HM017); 山东省教育厅科技计划项目(J105LL05)

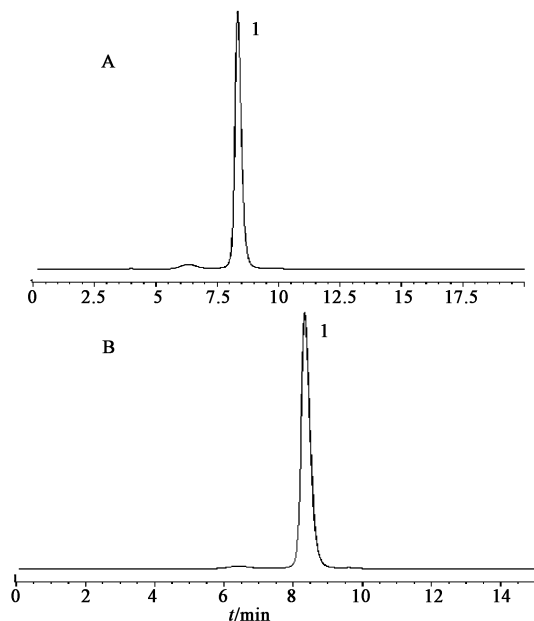
**[第一作者]** 蒋海强, 讲师, 从事中药及天然药物有效成分及质量控制研究, E-mail: jhq12723@163.com

**[通讯作者]** \* 周洪雷, 教授, 从事中药及天然药物有效成分及质量控制研究, E-mail: hongleizhou@yahoo.com.cn

科密欧试剂公司),水为娃哈哈纯净水,其余试剂为分析纯。芥子碱硫氰酸盐对照品(纯度>98%,自制)莱菔子购于山东济南建联中药店,经山东中医药大学李峰教授鉴定为十字花科植物萝卜 *Raphanus satiosus* L. 的干燥成熟种子,凭证标本保存于本实验室。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.08 mol·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液(12:88),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长326 nm,柱温25℃,进样量10 μL。色谱图见图1。



A. 供试品; B. 对照品; 1. 芥子碱硫氰酸盐

图1 莱菔子总碱液相色谱

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芥子碱硫氰酸盐对照品(置五氧化二磷减压干燥器中干燥12 h)2.41 mg,置于10 mL量瓶中,加70%甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,定容,作为对照品溶液,进样前0.45 μm微孔滤膜滤过。

**2.3 供试品溶液制备** 精密称取干燥至恒重的莱菔子总碱2.30 mg,置于10 mL量瓶中,加70%甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,定容,0.45 μm微孔滤膜滤过,备用。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取上述对照品溶液2, 4, 6, 8, 10, 12 μL,注入液相色谱仪测定。以峰面积Y为纵坐标,对照品进样量X(μg)为横坐标,得回归方程 $Y = 1588.9X + 57.293$  ( $r = 0.9992$ )。表明在0.482~2.892 μg有良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液10 μL,重

复进样6次,测得芥子碱硫氰酸盐峰面积。结果RSD 1.10%。

**2.6 重复性试验** 取同一批号样品6份,照2.3项下方法分别制备6份供试液,依法测定,芥子碱含量平均为42.13%,RSD 1.18%。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取样品溶液10 μL,分别于1,2,3,4,5,6 h进样,依法测定芥子碱硫氰酸盐各时间点的峰面积,结果RSD 1.55%,表明供试品在6 h内基本稳定。

**2.8 回收率试验** 称取已知莱菔子总碱含量同一批供试品6份,每份精密称定3.01 mg,分别精密加入芥子碱硫氰酸盐对照品,按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定含量并计算回收率,芥子碱硫氰酸盐平均回收率为103.63%,RSD 1.72%。

表1 莱菔子总碱有效部位加样回收试验

No.	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%
1	1.24	0.70	1.977	105.29	103.63
2	1.24	0.84	2.093	101.55	
3	1.24	0.56	1.828	105.00	
4	1.24	0.74	2.020	105.41	
5	1.24	0.88	2.139	102.16	
6	1.24	0.80	2.059	102.38	

**2.9 样品中芥子碱硫氰酸盐的测定** 取样品依法制备供试品溶液,相同色谱条件进样,测定5批样品纯度为41.13%,43.31%,44.33%,42.52%,43.36%,平均纯度42.53%,RSD 3.19%。

## 3 讨论

由于大孔吸附树脂广泛应用于天然植物活性成分(皂苷、黄酮、生物碱等)的提取分离,经该技术处理后可使有效成分高度富集,且可有效除去大量糖类、无机盐等成分,降低产品吸潮性,提高产品质量<sup>[3]</sup>,在中药生物碱的分离精制中得到了广泛的应用<sup>[4-6]</sup>。作者通过前期试验研究发现AB-8型大孔吸附树脂是一种比较理想的树脂,较适合莱菔子水溶性生物碱的分离纯化。

芥子碱在自然界中常以糖苷、有机酸酯盐、酰胺的形式存在,在十字花科植物中最常以芥子碱硫氰酸盐的形式存在<sup>[7]</sup>。芥子碱在弱酸溶液中6 h内基本稳定,但若芥子碱水溶液长时间置于室温,含量略有下降,因此长期贮存需置于-20℃<sup>[8]</sup>。

## 穿山龙血清指纹图谱分析

于书仪<sup>1</sup>, 季芳茹<sup>1</sup>, 于栋华<sup>2</sup>, 刘树民<sup>2\*</sup>

- (1. 佳木斯大学附属第一医院, 黑龙江 佳木斯 154002;  
2. 黑龙江中医药大学中医药研究院, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** 目的: 建立穿山龙大鼠体内 HPLC 血清指纹图谱。方法: 应用 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 0.1% 磷酸水-乙腈进行梯度洗脱, 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 210 nm, 柱温 25 °C。结果: 精密度、重复性、稳定性试验中共有峰相对峰面积、相对保留时间的 RSD 均 < 5.0%; 结论: 该方法简便、实用、可靠, 为继续深入对穿山龙药效物质基础研究、药效作用机制研究等打下了坚实的基础。

**[关键词]** 穿山龙; 反相高效液相色谱; 血清指纹图谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0080-03

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120704.1733.006.html>

**[网络出版时间]** 2012-07-04 17:33

## Studies on Chromatography Fingerprint of *Dioscorea nipponica* Serum

YU Shu-yi<sup>1</sup>, JI Fang-ru<sup>1</sup>, YU Dong-hua<sup>2</sup>, LIU Shu-min<sup>2\*</sup>

- (1. First Affiliated Hospital Jiamusi University Jiamusi Municipality of Heilongjiang Province, Jiamusi 154002, China; 2. Institute of Traditional Chinese Medicine Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for *Dioscorea nipponica* rats serum HPLC fingerprinting. **Method:** The separation was performed on a Diamonsil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with 0.1%

**[收稿日期]** 20120227(002)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81173618); 黑龙江省青年基金项目(QC2009C046); 黑龙江卫生厅科研项目(2011-386)

**[第一作者]** 于书仪, 主管药师, Tel: 15604549030, E-mail: yushuyi888@126.com

**[通讯作者]** \* 刘树民, 教授, 博士生导师, 从事中药临床药效物质基础研究及中药药性理论研究, Tel: 0451-82196181, E-mail: lsm@hljucm.net

### [参考文献]

- [1] 徐国钧. 中国药材学. 下册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 1229.
- [2] 李铁云, 李天国, 张国侠, 等. 莱菔子水溶性生物碱对自发高血压大鼠降压作用的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(1): 25.
- [3] 孙越, 曹喜红, 潘艳丽. 大孔吸附树脂在中药研究中的应用[J]. 中医药信息, 2002, 19(2): 23.
- [4] 王雅琦, 龚慕辛, 王智民, 等. 吴茱萸汤大孔树脂精制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5): 1.
- [5] 秦学功, 陈景超. 以 X-5 型大孔树脂吸附分离苦参生物碱的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16

(8): 29.

- [6] 容蓉, 王小平, 蒋海强. 吸附树脂对麻黄附子细辛汤中麻黄碱的吸附与解吸性能[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 17.
- [7] Kozłowska H, Naczka M, Shahidi F, et al. Canola and rapeseed; production, chemistry, nutrition and processing technology [M]. USA: Van Nostrand Reinhold, 1990: 193.
- [8] 南淑蕾, 吴圣曦, 吴国欣, 等. 白芥子中芥子碱的制备及纯度测定[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(10): 1343.

[责任编辑 顾雪竹]