·基础研究·

HPLC同时测定东北产区白屈菜6个生物碱成分的含量△

郭小趁[1]，张悦[1,2a]，刘永建[1]，高旭华[1]，刘永刚[1*]
1. 北京中医药大学 中药学院，北京　102488；
2. 北京市平谷区市场监督管理局 检验检测中心，北京　101200

［摘要］ **目的：**建立测定东北产区白屈菜中 6 种生物碱含量的方法，完善和提升白屈菜药材现有的质量评价体系。**方法：**采用高效液相色谱法。色谱柱为 SB-C_{18}（250 mm×4. 6 mm，5 μm），流动相为乙腈-1% 三乙胺（用磷酸调节 pH 值至 3. 0），梯度洗脱（0~5 min，10%~20%A；5~15 min，20%~24%A；15~55 min，24%A；55~60 min，24%~10%A），流速 1. 0 mL·min^{-1}，柱温 35 ℃，检测波长 274 mm。**结果：**12 批东北产区白屈菜药材中白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱的质量浓度分别在 1. 68~33. 60、3. 40~68. 00、2. 32~46. 40、3. 84~76. 80、1. 72~34. 40、1. 89~37. 76 μg·mL^{-1} 与峰面积呈良好的线性关系（r≥0. 999 9），精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2. 0%，平均加样回收率分别为 99. 12%、98. 79%、98. 60%、98. 94%、98. 25%、99. 39%，RSD 均小于 2. 0%。**结论：**该方法操作简单、准确、灵敏、重复性好，可为东北产区白屈菜药材质量标准的提升和完善提供实验依据和参考。

［关键词］ 白屈菜；二氢黄连碱；人血草碱；白屈菜红碱；含量测定
［中图分类号］ R284　　［文献标识码］ A　　［文章编号］ 1673-4890(2022)10-1870-07
doi：10. 13313/j. issn. 1673-4890. 20211201003

Simultaneous Determination of Six Alkaloidals in *Chelidonium majus* L. from Northeast China by HPLC

GUO Xiao-chen[1], ZHANG Yue[1,2a], LIU Yong-jian[1], GAO Xu-hua[1], LIU Yong-gang[1*]
1. *School of Chinese Materia Medica*, *Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 102488, *China*;
2. *Inspection and Testing Center of Market Regulation Administration of Pinggu District*, *Beijing* 101200, *China*

[**Abstract**] **Objective**: To establish a method for the determination of six alkaloids in *Chelidonium majus* L. from northeast China, and to improve and enhance the existing quality evaluation system of *C. majus* L. herbs. **Methods**: A reverse high performance liquid chromatographic method was used. The chromatographic column was SB-C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5μm), and the mobile phase was acetonitrile-1% triethylamine (pH value was adjusted to 3.0 by phosphoric acid) with gradient elution (0-5 min, 10%-20%A; 5-15 min, 20%-24%A; 15-55 min, 24%A; 55-60 min, 24%-10%A) at a flow rate of 1.0 mL·min^{-1}. The column temperature was 35 ℃, and the detection wavelength was 274 mm. **Results**: The mass concentration of chelidonine, dihydrocoptisine, stylopine, sanguinarine, berberine, and chelerythrine in 12 batches of *C. majus* L. herbs was 1.68-33.60, 3.40-68.00, 2.32-46.40, 3.84-76.80, 1.72-34.40, and 1.89-37.76 μg·mL^{-1}, respectively, and the peak areas were linearly well correlated (r≥0.999 9). The relative standard deviation (RSD) values of precision, stability, and reproducibility were less than 2.0%. The average recovery rates were 99.12%, 98.79%, 98.60%, 98.94%, 98.25%, and 99.39%, respectively, with the RSDs less than 2.0%. **Conclusion**: The method established in this study is simple, accurate, sensitive, and reproducible, and can provide experimental references for the improvement and perfection of the quality standard of *C. majus* L. herbs in northeast China.

[**Keywords**] *Chelidonium majus* L. ; dihydrocoptisine; stylopine; chelerythrine; content determination

△［基金项目］ 国家重点研发计划项目（2018YFC1706505）；校级课题重点攻关项目（2020-JYB-ZDGG-040）
*［通信作者］ 刘永刚，博士，教授，研究方向：中药化学；E-mail：liuyg0228@163.com
[a] 并列第一作者

白屈菜是我国的一种传统中草药，最早收载于《救荒本草》[1]，为罂粟科植物白屈菜属白屈菜 *Chelidonium majus* L. 的干燥全草。其别名为土黄连、山黄连、八步紧、牛金花、断肠草、雄黄草、小野人血草，为多年生草本植物，喜生于山谷的湿润地带，林缘水沟边，是北方山区常见的药用植物[2]，作为吉林省的道地药材，被收录于《吉林药材图志》[3]。白屈菜味苦，性凉，有毒，归肺、胃经，具有镇痛、止咳、利尿、解毒的功效，主治胃痛、腹痛、肠炎、痢疾等疾病[4]。现代研究表明，白屈菜药材含有的活性成分大多是异喹啉类生物碱，主要包括原阿片碱、白屈菜碱、白屈菜红碱、人血草碱、血根碱、小檗碱等，这些生物碱的生物活性多集中于抗炎抑菌、抗肿瘤、杀虫、镇痛祛痰止咳等方面[5-9]。

本课题组以东北产区白屈菜干燥全草为研究对象，对其进行提取分离，得到并且鉴定了多个生物碱单体化合物（20个单体化合物，多为生物碱成分），其中二氢黄连碱、人血草碱单体化合物含量较高，而目前与白屈菜指标性成分含量测定的相关研究中并未涉及二氢黄连碱、人血草碱。众所周知，中药材所含成分复杂，且大量的药理实验证明，单味药与其药材某单一成分的作用是不可以等同的，中药材的药效大多是各成分的综合作用[7]。《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）2020年版中仅用白屈菜红碱作为指标成分来衡量白屈菜药材的质量是不全面的。因此，本研究在《中国药典》2020年版的基础上新建立了同时测定东北产区白屈菜药材中白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱的高效液相色谱法（HPLC），为提升和完善东北产区白屈菜药材的质量标准提供了实验依据。

1　材料

1.1　仪器

LC20AT型高效液相色谱仪（配备四元泵、在线真空脱气机柱温箱、自动进样器、紫外可变波长检测器，日本岛津公司）；KH-250型速控超声波清洗器（昆山禾创超声仪器有限公司）；BT25S型十万分之一电子天平、BSA124S-CW型万分之一电子天平（赛多利斯公司）。

1.2　试药

对照品白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱均为实验室自制，通过核磁共振氢谱（^{1}H-NMR）、核磁共振碳谱（^{13}C-NMR）、质谱（MS）等谱学数据确证了其化学结构，经HPLC面积归一法检测质量分数均大于98.0%；乙腈、甲醇、三乙胺（色谱级，美国Fisher公司）；磷酸（国药化学试剂有限公司）；其他试剂均为分析纯。12批白屈菜药材来源信息见表1，经北京中医药大学中药学院刘永刚教授鉴定为罂粟科植物白屈菜 *C.* majus L. 全草，标本存于北京中医药大学中药学院。

表1　12批白屈菜药材来源信息

样品编号	产地	样品编号	产地
S1	吉林省吉林市	S7	辽宁省丹东市
S2	吉林省吉林市	S8	辽宁省丹东市
S3	吉林省吉林市	S9	辽宁省丹东市
S4	辽宁省鞍山市	S10	黑龙江省大庆市
S5	辽宁省鞍山市	S11	黑龙江省大庆市
S6	辽宁省鞍山市	S12	黑龙江省大庆市

2　方法与结果

2.1　溶液的制备

2.1.1　混合对照品溶液的制备　分别精密称定对照品白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱适量，加甲醇溶解并定容，制成质量浓度分别为33.60、68.00、46.40、76.80、34.40、37.76 μg·mL^{-1}的混合对照品溶液。

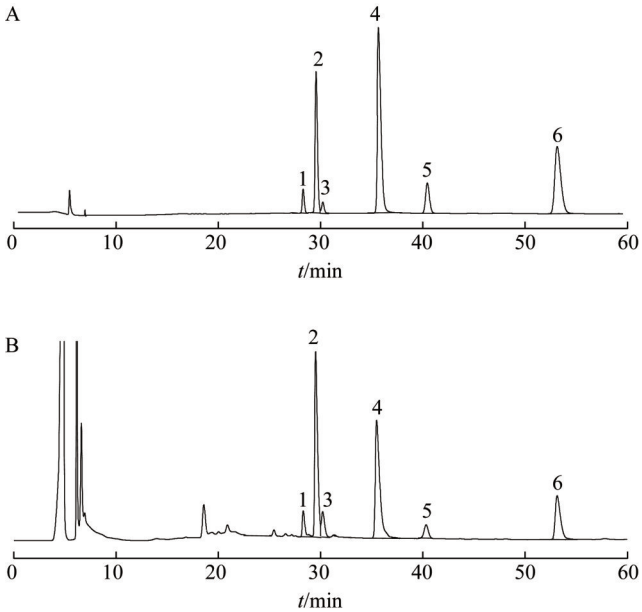
2.1.2　供试品溶液的制备　取上述东北产区白屈菜药材粉末（过三号筛）约2.5 g，精密称定，置圆底烧瓶中，精密加盐酸-甲醇（0.5∶100）混合溶液50 mL，称定质量，加热回流1.5 h，放冷，再称定质量，用盐酸-甲醇（0.5∶100）混合溶液补足减失的质量，摇匀，滤过，精密量取续滤液25 mL，蒸干，残渣加甲醇使溶解，转移至10 mL量瓶中，加甲醇至刻度摇匀，过0.22 μm微孔滤膜，即得。

2.2　色谱条件

采用SB-C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱；以乙腈（A）-1%三乙胺（B）作为流动相，用磷酸调节pH至3.0，梯度洗脱（0~5 min，10%~20%A；5~15 min，20%~24%A；15~55 min，24%A；55~60 min，24%~10%A）；流速1.0 mL·min^{-1}，检

测波长 274 nm，柱温 35 ℃，进样量 10 μL [7-17]。

按照 **2.2** 项下色谱条件测定混合对照品溶液及白屈菜药材样品溶液，白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱与相邻色谱峰的分离度均大于 1.5，色谱图见图 1。可知混合对照品溶液中 6 种生物碱与供试品溶液中待测成分的 HPLC 图保留时间比对，依次为白屈菜碱 28.07 min、二氢黄连碱 29.59 min、人血草碱 31.48 min、血根碱 35.47 min、小檗碱 40.51 min、白屈菜红碱 53.42 min。



注：A. 混合对照品；B. 白屈菜药材样品；1. 白屈菜碱；2. 二氢黄连碱；3. 人血草碱；4. 血根碱；5. 小檗碱；6. 白屈菜红碱。

图 1　混合对照品及白屈菜药材样品 HPLC 图

2.3　方法学考察

2.3.1　线性关系考察　分别精密量取混合对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL 至 10 mL 量瓶中，加甲醇定容至刻度，得到系列质量浓度混合对照品溶液。分别精密吸取各混合对照品溶液 10 μL 进样测定。以对照品质量浓度（μg）为横坐标（X），峰面积值为纵坐标（Y）进行线性回归，得 6 种成分的回归方程，结果见表 2。表明 6 种生物碱单体化合物的峰面积随质量浓度变化呈良好的线性关系。即东北产区白屈菜药材中白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱的质量浓度分别在 1.68~33.60、3.40~68.00、2.32~46.40、3.84~76.80、1.72~34.40、1.89~37.76 μg·mL^{-1} 与峰面积呈良好的线性关系（r≥0.999 9）。

表 2　白屈菜 6 种成分的线性关系

成分	回归方程	线性范围/μg·mL^{-1}
白屈菜碱	Y=19 309.2X - 4 213.7	1.68~33.60
二氢黄连碱	Y=61 516.5X - 71 359.8	3.40~68.00
人血草碱	Y=6 957.8X - 2 653.5	2.32~46.40
血根碱	Y=114 728.0X - 80 722.1	3.84~76.80
小檗碱	Y=42 659.4X - 21 914.6	1.72~34.40
白屈菜红碱	Y=135 385.0X - 38 685.1	1.89~37.76

注：r 均为 0.999 9。

2.3.2　精密度试验　取同一白屈菜供试品溶液，按 **2.2** 项下色谱条件重复进样 6 次，测定各峰面积，计算白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱的峰面积 RSD 分别为 0.31%、0.35%、0.42%、0.41%、0.35%、0.36%，表明仪器精密度良好。

2.3.3　稳定性试验　取同一批白屈菜药材粉末，按 **2.1.2** 项下方法制备供试品溶液，按 **2.2** 项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、24 h 进样测定峰面积，计算白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱的峰面积 RSD 分别为 1.00%、1.15%、1.76%、1.79%、1.01%、1.15%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4　重复性试验　取同一批白屈菜药材粉末，按项 **2.1.2** 项下方法制备 6 份供试品溶液，按 **2.2** 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，结果白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱含量的 RSD 分别为 0.59%、0.65%、1.86%、1.44%、1.36%、0.56%，表明方法重复性良好。

2.3.5　加样回收率试验　称取 **2.3.4** 项下已知含量的白屈菜药材粉末约 1.25 g，平行 6 份，按 **2.1.2** 项下方法制备供试品，分别加入白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱对照品，按 **2.2** 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算样品中各生物碱的平均加样回收率及 RSD，结果见表 3。即供试品中 6 种生物碱单体化合物的平均加样回收率分别为 99.12%、98.79%、98.60%、98.94%、98.25%、99.39%，RSD 均小于 2.0%，表明方法加样回收率良好。

2.4　样品含量测定

取 12 批东北产区白屈菜药材粉末，按 **2.1.2** 项下的方法制备供试品溶液，按 **2.2** 项下色谱条件进行含量测定，得出峰面积并计算其平均值，根据回

表3　白屈菜中6个化合物的加样回收率试验结果

成分	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
白屈菜碱	1.251 2	0.362 3	0.369 2	0.731 6	1.000 3	99.12	1.27
	1.251 4	0.362 4	0.369 2	0.720 5	0.969 9		
	1.252 3	0.362 7	0.369 2	0.730 7	0.996 7		
	1.251 1	0.362 1	0.544 7	0.901 2	0.989 7		
	1.251 5	0.362 3	0.544 7	0.909 8	1.005 1		
	1.251 8	0.362 3	0.544 7	0.899 1	0.985 5		
二氢黄连碱	1.251 3	0.924 9	0.938 3	1.851 3	0.987 3	98.79	1.04
	1.251 1	0.924 9	0.938 3	1.863 3	1.000 1		
	1.251 6	0.926 3	0.938 3	1.864 9	1.000 3		
	1.251 8	0.924 8	1.468 7	2.370 4	0.984 3		
	1.251 3	0.925 8	1.468 7	2.359 7	0.976 3		
	1.251 7	0.926 3	1.468 7	2.364 7	0.979 4		
人血草碱	1.251 9	0.469 4	0.375 0	0.829 9	0.961 3	98.60	1.46
	1.251 5	0.469 6	0.375 0	0.844 7	1.000 3		
	1.251 9	0.469 5	0.375 0	0.839 8	0.987 5		
	1.251 3	0.471 3	0.721 7	1.179 4	0.981 2		
	1.251 7	0.469 6	0.721 7	1.191 4	1.000 1		
	1.251 4	0.469 8	0.721 7	1.181 0	0.985 5		
血根碱	1.251 1	0.350 1	0.701 0	1.051 0	0.999 9	98.94	1.07
	1.251 6	0.349 2	0.701 0	1.046 9	0.995 3		
	1.251 7	0.349 4	0.701 0	1.051 5	1.001 6		
	1.251 0	0.351 3	0.875 0	1.208 5	0.979 7		
	1.251 3	0.351 3	0.875 0	1.209 2	0.980 5		
	1.251 7	0.352 0	0.875 0	1.209 3	0.979 8		
小檗碱	1.251 9	0.070 4	0.171 5	0.241 4	0.997 1	98.25	1.08
	1.251 3	0.070 5	0.171 5	0.239 5	0.985 4		
	1.252 2	0.070 3	0.171 5	0.238 1	0.978 4		
	1.251 5	0.068 3	0.210 0	0.276 5	0.991 4		
	1.251 1	0.070 5	0.210 0	0.274 7	0.972 4		
	1.251 5	0.070 1	0.210 0	0.273 9	0.970 5		
白屈菜红碱	1.251 5	0.181 3	0.363 4	0.542 8	0.994 8	99.39	1.11
	1.251 2	0.181 5	0.363 4	0.534 7	0.971 9		
	1.252 4	0.181 7	0.363 4	0.544 9	0.999 4		
	1.250 9	0.181 6	0.454 2	0.635 9	1.000 2		
	1.251 6	0.181 8	0.454 2	0.636 3	1.000 7		
	1.251 3	0.181 6	0.454 2	0.634 1	0.996 3		

归方程计算样品中6个成分的含量，结果见表4。12批样品中中6种生物碱的含量高低依次为二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、白屈菜碱、白屈菜红碱、小檗碱。

以东北产区白屈菜药材粉末中6种生物碱含量的多少为参考指标，利用IBM SPSS 22. 0统计软件对含量测定结果进行进一步的分析，发现4个地方6个成分样本量不满足正态性检验，因此选择采用非参数独立样本Kruskal-Wallis检验东北不同地方白屈菜药材中不同生物碱的含量进行差异分析，借助数据绘图工具GraphPad Prism 8. 0软件做差异分析小提琴式图（图2）。结果显示，6个成分中白屈菜碱以黑龙江大庆产地整体含量较高，二氢黄连碱以辽宁鞍山产地含量较高，人血草碱以吉林产地含量较高，血根碱、白屈菜红碱和小檗碱含量以辽宁丹东产地整体含量较高。12批样品中6种生物碱的含量比例差异可能是与实验所购买的白屈菜药材的采集种植区域的土壤、海拔、气候、储存条件等有关。

表 4　12 批样品各成分质量分数测定结果（n=3）

mg·g^{-1}

样品编号	白屈菜碱	二氢黄连碱	人血草碱	血根碱	小檗碱	白屈菜红碱
S1	0.654 9	1.997 6	0.959 6	0.681 1	0.131 3	0.331 9
S2	0.651 0	1.985 1	0.949 9	0.676 5	0.130 2	0.329 7
S3	0.656 9	1.991 5	0.956 4	0.682 5	0.131 9	0.333 2
S4	0.654 3	2.103 6	0.941 1	0.678 5	0.130 1	0.330 2
S5	0.655 1	2.097 6	0.942 5	0.677 6	0.131 3	0.331 4
S6	0.653 1	2.109 3	0.943 9	0.676 0	0.130 7	0.330 5
S7	0.647 3	1.989 6	0.941 6	0.693 1	0.140 8	0.347 9
S8	0.642 7	1.979 1	0.943 9	0.688 5	0.139 2	0.345 7
S9	0.651 1	1.985 5	0.948 4	0.696 5	0.140 1	0.349 2
S10	0.679 9	2.014 6	0.931 1	0.673 5	0.121 0	0.325 8
S11	0.677 0	2.002 0	0.934 5	0.672 6	0.122 4	0.325 2
S12	0.675 9	2.021 7	0.935 9	0.671 0	0.121 5	0.324 1

3　讨论

3.1　指标性成分的选取

现代研究发现白屈菜药材具有显著的抗炎抑菌、抗肿瘤、杀虫、镇痛止咳等多种生物活性，其活性成分主要为异喹啉类生物碱，包括白屈菜碱、白屈菜红碱、血根碱、小檗碱等。而《中国药典》2020 年版中仅用白屈菜红碱作为指标成分来衡量白屈菜药材的优劣是不全面的。白屈菜中不仅仅白屈菜红碱具有抗肿瘤、镇痛、抗炎、抗菌等作用。白屈菜中白屈菜碱除具有抗肿瘤、镇痛镇静、解痉和抑菌抑螨作用外，还对肝脏有保护作用，亦能兴奋心脏、扩张冠脉血管、升高血压等，在心血管方面表现出良好的活性[18]。血根碱除具有抗细菌、抗真菌、抗肿瘤、改善肝功能增强免疫力作用外，在杀虫、影响畜禽生长方面的作用尤其突出[19]。白屈菜中小檗碱不仅具有抗菌、抗病毒、抗胃溃疡等药理作用，还在调血糖、调血脂、抗肿瘤及抗心脑血管疾病方面发挥着重要的作用[20]。由于本课题组对白屈菜全草进行提取分离所得到的生物碱中二氢黄连碱、人血草碱单体化合物的含量较高，且目前白屈菜指标性成分含量测定的相关研究中并未涉及二氢黄连碱、人血草碱。故本研究对二氢黄连碱、人血草碱的含量进行测定的同时控制多个成分，以更好地保证药材质量，保障临床用药的安全性与准确性，选取了白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱作为白屈菜药材含量测定的指标性成分，弥补了东北产区白屈菜药材质量控制中指标性成分不全面这一不足。

3.2　样品提取方法的选取

比较了以酸水提取碱沉法[17]和盐酸-甲醇（0.5∶100）回流（《中国药典》2020 年版）两种提取方法，发现在以酸水提取的过程中过滤操作困难且提取得率偏小；通过 HPLC 检测发现，以酸水提取碱沉法提取的样品中出峰物质少，以盐酸-甲醇（0.5∶100）回流提取的样品中生物碱出峰较多。故选用《中国药典》2020 年版收录的盐酸-甲醇（0.5∶100）作为提取溶剂。

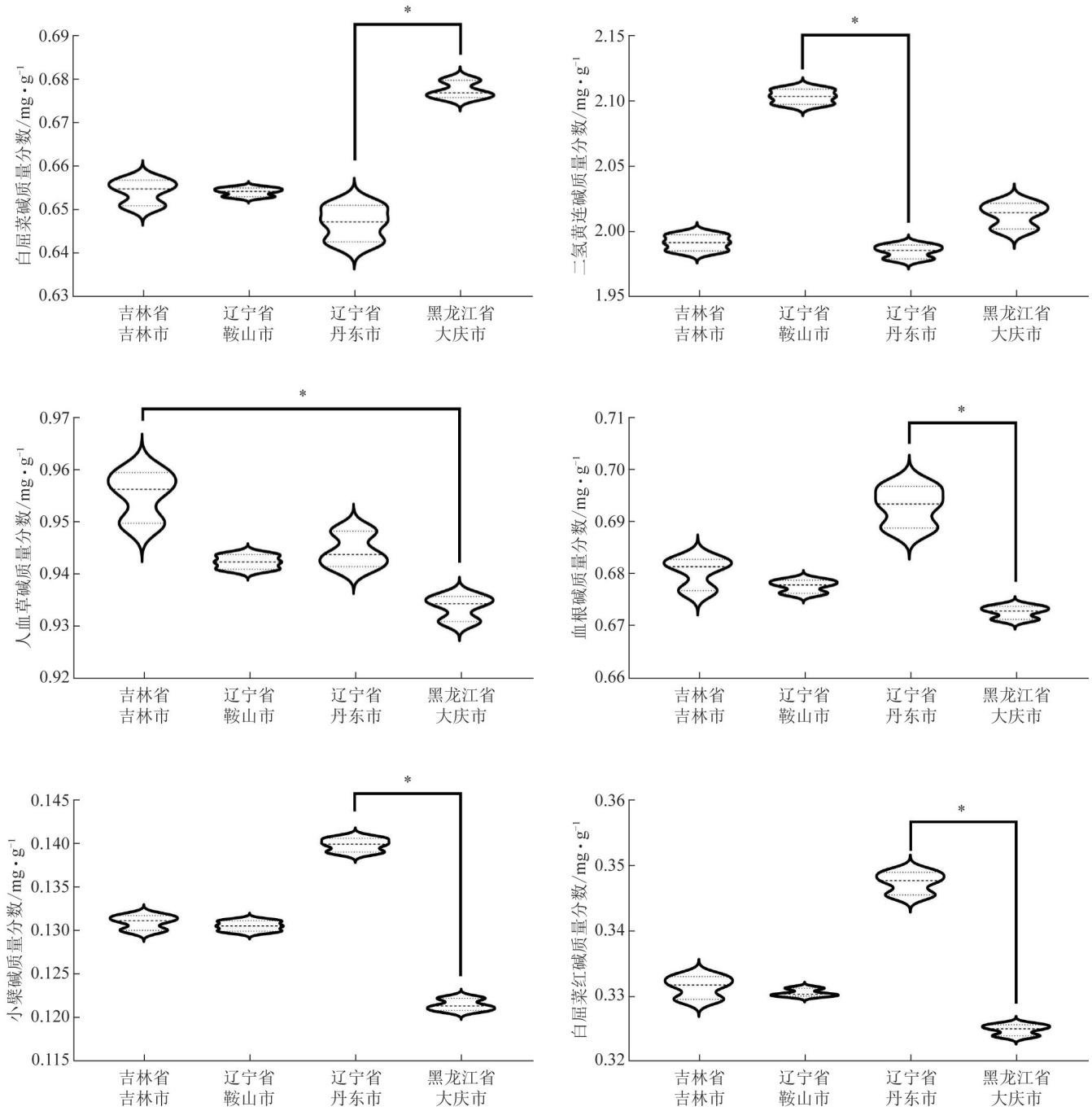
3.3　色谱条件的选取与优化

3.3.1　波长的选取　对东北产区白屈菜药材样品中的 6 个生物碱类成分进行 200~400 nm 的全波长扫描，6 个待测成分在 200~344 nm 处均有不同的吸收峰，实验选取比较了不同波长下 6 个待测成分的峰数目和分离度，并结合已有的文献报道[9-17]，在 274 nm 处样品中 6 个生物碱成分均能显示，且此波长下的色谱图中基线平直，杂质峰较小，6 个待测成分的分离度和峰形均良好。

3.3.2　流动相的选取与优化　查阅文献得知在流动相中，加入三乙胺可作为硅醇基改性剂，能竞争或阻断硅醇基的影响[17]，减轻样品中 6 种生物碱成分色谱峰重叠峰形较差，出峰时间长的现象。因此采用乙腈-（0.1%、0.5%、1.0%）三乙胺（用磷酸调节 pH 值至 3.0）条件进行不同梯度多次调整洗脱，色谱图结果显示乙腈-1% 三乙胺（用磷酸调节 pH 至 3.0）梯度洗脱（0~5 min，10%~20%A；5~15 min，20%~24%A；15~55 min，24%A；55~60 min，24%~10%A），6 种待测成分完全分离，且峰形较好。

3.4　系统适用性考察

进行了不同实验室 3 种高效液相色谱系统：Agilent 1200S、Waters 2695-2998、岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪和 3 种不同色谱柱 Thermo C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Agilent Extend C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Diamonsil C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）的考察。检测东北产区同一批白屈菜药材粉末中 6 种生物碱成分的峰面积及其 RSD，并考察其分离度、理论塔板数、拖尾因子，色谱结果显示各条件下所测得 6 种待测成分的峰面积及其 RSD 均在 4% 以内，分离效果良好。随后实验还对流速变化（±20%）及检测波长变化（±5 nm）进行了考察，发现选用乙



注：$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.001$。

图 2　东北产区 4 个地方白屈菜药材 6 个成分的质量分数比较

腈-1% 三乙胺（用磷酸调节 pH 值至 3.0）梯度洗脱（0~5 min，10%~20%A；5~15 min，20%~24%A；15~55 min，24%A；55~60 min，24%~10%A），柱温 35 ℃时，流速分别为 0.8、1.0、1.2 mL·min^{-1}时有良好的适应性，且 RSD<5%；在检测波长为 269、274、279 nm 时差异无统计学意义，RSD<4%。因此，东北产区白屈菜药材粉末中 6 种生物碱成分的含量测定条件具有良好的适用性。

4　结论

本研究在《中国药典》2020 年版的基础上，建立了更加科学、全面的东北产区白屈菜药材的 HPLC 含量测定方法。根据本课题组对东北产区白屈菜全草进行提取分离所得的化合物，同时为保障

临床用药的安全性与准确性，选取了白屈菜碱、二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、小檗碱、白屈菜红碱这6种生物碱为白屈菜药材的指标性成分，增加了2种未见文献报道过其含量测定的单体化合物二氢黄连碱、人血草碱（其中二氢黄连碱疑似为新分出化合物，有待验证）。在含量测定色谱条件下混合对照品溶液中6个生物碱与供试品溶液中待测成分的HPLC图保留时间比对，依次为白屈菜碱28. 07 min、二氢黄连碱29. 59 min、人血草碱31. 48 min、血根碱35. 47 min、小檗碱40. 51 min、白屈菜红碱53. 42 min。6种生物碱在各自的检测范围内均线性良好，相关系数均达到了0. 999 9，精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2. 0%，平均加样回收率分别为99. 12%、98. 79%、98. 60%、98. 94%、98. 25%、99. 39%，RSD均小于2. 0%。经实验测得的12批样品中检出的白屈菜红碱均符合《中国药典》2020年版的规定，即白屈菜红碱含量不少于0. 020%。12批样品中6种生物碱的含量高低依次为二氢黄连碱、人血草碱、血根碱、白屈菜碱、白屈菜红碱，小檗碱。该方法操作简单、准确、灵敏、重复性好，可为东北产区白屈菜药材质量评价与控制的完善提供实验依据和参考。

参考文献

[1] 山尔.《〈救荒本草〉校释与研究》出版[J].中华医史杂志，2007(2):107.

[2] 昝立峰，李丹花，葛水莲，等.大孔吸附树脂分离纯化白屈菜总生物碱的研究[J].湖北农业科学，2016，55(8):2082-2085.

[3] 于秀杰，苏焱，唐丽萍，等.白屈菜的栽培方法[J].人参研究，2008，20(3):40.

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[M].北京：中国医药科技出版社，2020:112.

[5] 夏成才，肖玉良，王彩云，等.白屈菜总生物碱的提取工艺研究[J].时珍国医国药，2010，21(12):3216-3217.

[6] 袁磊.白屈菜综合研究最新进展[J].安徽农业科学，2015，43(7):15-17.

[7] 顾悦.白屈菜质量评价研究[D].镇江：江苏大学，2010.

[8] 姜华，李军，李欣，等.响应面法优化白屈菜总生物碱提取工艺[J].北京中医药大学学报，2017，40(9):772-776.

[9] 杨明慧.吉林省不同产地白屈菜有效成分含量及药效比较[D].长春：长春中医药大学，2019.

[10] 邹翔，方月妮，曲中原，等.HPLC法测定白屈菜不同器官多种生物碱的质量比[J].哈尔滨商业大学学报(自然科学版)，2016，32(3):257-260.

[11] 鲁文静，罗世恒，陈世忠.白屈菜中多种生物碱含量的高效液相色谱法测定[J].时珍国医国药，2013，24(3):601-603.

[12] 许世富.高效液相色谱法测定博落回注射液中血根碱和白屈菜红碱的含量[J].中国兽药杂志，2009，43(6):15-17.

[13] 刘志刚，谢晓林，余磊，等.RP-HPLC法同时测定飞龙掌血中6种成分的含量[J].中药材，2019，42(9):2100-2103.

[14] 黄涛阳，王晖，翁燕君，等.一测多评法测定白屈菜中5种生物碱的含量[J].中药材，2016，39(10):2268-2271.

[15] 左金梁，白璐，宋欣鑫，等.RP-HPLC法同时测定白屈菜药材中血根碱、小檗碱和白屈菜红碱的含量[J].药物分析杂志，2008，28(6):903-905.

[16] 王雪，刘洪章，刘树英，等.响应面法优化白屈菜根中白屈菜碱提取工艺的研究[J].黑龙江畜牧兽医，2016(15):201-204.

[17] 赵胜男，李瑞海，贾天柱.21个批次白屈菜6种成分含量测定研究[J].中华中医药学刊，2020，38(11):207-209.

[18] 邹翔，王雨蒙，王嘉琪，等.白屈菜碱的药理作用研究进展[J].现代药物与临床，2014，29(11):1326-1330.

[19] 朱丽飞，王小莉，曲书昊.血根碱的药理作用研究进展[J].广东化工，2020，47(22):69-70.

[20] 周瑞，项昌培，张晶晶，等.黄连化学成分及小檗碱药理作用研究进展[J].中国中药杂志，2020，45(19):4561-4573.

（收稿日期：2021-12-01　编辑：吴美琪）