

高效液相色谱法测定胡芦巴药材中葫芦巴碱的含量

郭增喜¹,陈碧莲¹,李文霞²,戚雁飞¹(1.浙江省药品检验所,浙江 杭州 310004;2.国光药业有限公司,浙江 杭州 310018)

摘要:目的 建立胡芦巴药材中葫芦巴碱含量测定的方法。方法 采用离子对色谱法,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;甲醇-冰醋酸-0.05%十二烷基磺酸钠溶液(20:0.1:80)为流动相;检测波长为265nm;柱温30℃。结果 葫芦巴碱进样量在0.07968~1.1952μg范围内有良好的线性关系, $r=1.0000$,平均回收率为102.44%,RSD为0.7%($n=6$)。结论 此含量测定方法简便、可靠、重现性好,可作为胡芦巴药材含量测定的方法。

关键词:离子对色谱法;胡芦巴;葫芦巴碱

中图分类号:R917.78.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)07-0641-02

Determination of Trigonelline in Semen Trigonellae by HPLC

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of trigonelline in Semen Trigonellae. **METHODS** A shimpack reversed-phase C_{18} analytical column (150×4.6mm I.D.,5μm) was utilized at a column temperature of 30℃. The mobile phase was methanol-0.05% SDS- glacial acetic acid. The detection wavelength was 265nm. **RESULTS** The calibration curve showed good linearity over the range of 0.07968-1.1952μg ($r=1.0000$). The average recovery was 102.44% and the relative standard deviation was 0.7% ($n=6$). **CONCLUSION** The method is simple, and accurate with a good reproducibility and can be used as quantitative analysis method for Semen Trigonellae.

KEY WORDS:HPLC; Semen Trigonellae; trigonelline

胡芦巴药材中含葫芦巴碱、胆碱等生物碱,其中以葫芦巴碱(trigonelline)含量较高,该药材中葫芦巴碱的含量测定方法目前尚未见有文献报道。本文应用HPLC法,建立了胡芦巴药材中葫芦巴碱的含量测定方法。实验结果表明,方法简便、准确、重现性好,可作为胡芦巴药材质量控制的有效方法。

1 仪器与试剂

HP1100系列高效液相色谱仪,岛津UV-260紫外分光光度计。葫芦巴碱对照品,由中国药品生物制品检定所提供(批号883-200001),经纯度检查,未检出杂质峰。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余为分析纯。不同来源的胡芦巴药材。

2 实验方法与结果

2.1 测定波长的选择 取葫芦巴碱适量,加50%甲醇制成

对照品溶液,置紫外分光光度计下记录其紫外吸收光谱,结果显示,葫芦巴碱在264.8nm波长处有最大吸收,故选择265nm为测定波长。

2.2 色谱条件 色谱柱: shimpack C_{18} 柱(150mm×4.6mm,5μm);甲醇-冰醋酸-0.05%十二烷基磺酸钠溶液(20:0.1:80)为流动相;检测波长为265nm;柱温30℃。在此色谱条件下葫芦巴碱峰与其它组分峰能得到较好分离,结果见图1。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取葫芦巴碱对照品适量,加50%甲醇制成每1mL中含60μg的溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取本品粉末约0.5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加50%甲醇50mL,密塞,放置1h后,超声处理45min,取出,放冷至室温,摇匀,滤过,即得。

2.5 线性关系考察 精密量取葫芦巴碱对照品溶液(39.84

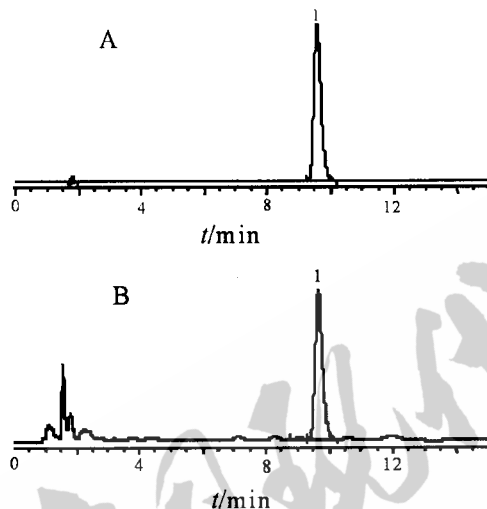


图1 葫芦巴碱对照品和葫芦巴样品色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of trigonelline standard and Semen Trigonellae

A. 葫芦巴碱对照品 B. 葫芦巴药材 1. 葫芦巴碱

A. trigonelline standard B. Semen Trigonellae 1. trigonelline

$\mu\text{g/mL}$) 2、4、8、12、16、20、30 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积 Y , 以峰面积为纵坐标 (Y), 葫芦巴碱进样量为横坐标 (X), 以最小二乘法计算得回归方程: $Y = 1291.7471X + 0.7265$, $r = 1.0000$, 显示进样量在 0.07968-1.1952 μg 范围内有良好的线性关系。

2.6 精密度和重现性试验 取供试品溶液, 按以上色谱条件, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.42% ($n=6$); 对同一样品按拟定的方法作多次测定, 其含量相对标准偏差为 0.9% ($n=6$)。

2.7 稳定性试验 从 0 ~ 27h, 取供试品溶液, 按以上色谱条件, 每隔一定时间进样 1 针, 测定峰面积, 结果 RSD 为 1.01%。

2.8 回收率试验 精密称定已知含量的葫芦巴药材 0.25g 共 6 份, 精密加入葫芦巴碱对照品适量, 按供试品溶液制备法制备, 依法测定并计算, 结果显示平均回收率为 102.44%, RSD = 0.7%。

2.9 样品测定 按拟定方法测定六批不同来源的药材, 结果分别为 0.61%、0.63%、0.59%、0.63%、0.68%、0.75%。

3 讨论

3.1 对提取溶剂及提取方法进行了比较, 采用 50% 甲醇作为提取溶剂, 加溶剂量为 50mL, 先冷浸 1h, 再超声 45min, 可基本将葫芦巴药材中的葫芦巴碱提取完全。

3.2 因葫芦巴碱为内盐, 极性较大, 如采用甲醇-水、乙腈-水系统, 在 C18 柱、C8 柱中均保留较小, 故采用离子对色谱法, 曾采用辛酸磺酸钠作为离子对试剂, 但由于碳链太短, 保留值仍然太小, 故采用十二烷基磺酸钠作为离子对试剂。

收稿日期: 2005-04-30