

HPLC 测定元胡药材中脱氢延胡索碱的含量

陈峰阳, 叶益萍, 李晓誉*, 王虎根 (浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

摘要:目的 建立元胡药材中脱氢延胡索碱含量测定方法。方法 色谱柱使用 Diamonsil C-18 (250 × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈-0.2% 醋酸 (18:82) 为流动相; 检测波长为 340 nm; 流速 1 mL · min⁻¹。结果 盐酸脱氢延胡索碱在进样量 0.163 0 ~ 1.630 4 μg 范围内线性关系良好, 回归方程为: $y = 1\,553.5x + 1.306\,1$, $r = 0.999\,9$; 平均回收率为 97.9%, RSD 为 1.38%, $n = 9$ 。结论 本方法简便, 灵敏, 准确, 重现性好, 可用于元胡药材的含量测定和质量控制。

关键词:元胡; 脱氢延胡索碱; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693 (2009) 01-0058-03

Quantitative Determination of Dehydrocorydaline in *Rhizoma Corydalis* by HPLC

CHEN Fengyang, YE Yiping, LI Xiaoyu*, WANG Hugen (Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of dehydrocorydaline in *Rhizoma Corydalis* by HPLC. **METHODS** The analysis was carried out on Diamonsil C-18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile - 0.2% acetic acid (18:82); wavelength was 340 nm and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. **RESULTS** The liner range of dehydrocorydaline was 0.163 0 - 1.630 4 μg. Regression equation was $Y = 1\,553.5X + 1.306\,1$, $r = 0.999\,9$. The average recovery was 97.9% with RSD = 1.38% ($n = 9$). **CONCLUSION** The methods is accurate with a good reproducibility and can be used as a quantitative analysis for *Rhizoma Corydalis*.

KEY WORDS: *Rhizoma Corydalis*; dehydrocorydaline; HPLC

元胡为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎^[1], 具有活血、利气、止痛的功效。药理研究表明, 元胡中生物碱对心血管、神经、消化、内分泌等系统均有明显的药理作用。元胡的主要成分是生物碱, 延胡索乙素主要为镇痛、镇静作用; 脱氢延胡索碱有明显的扩张冠状血管, 改善心肌微循环的作用, 能提高心肌耐缺氧能力, 对心肌缺血、坏死有保护作用。文献报道多以测定延胡索药材中延胡索乙素为指标, 而对其所含的季铵型生物碱小檗碱的测定很少报道^[2-4]。我国药典 2005 版一部也以延胡索乙素为含量测定指标, 这很难全面控制元胡药材的内在质量。为此笔者建立了高效液相色谱仪测定元胡中季铵型生物碱盐酸脱氢延胡索碱含量方法, 以进一步控制该药材质量。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 系列高效液相色谱仪 (LC-20AT 泵, SPD-20A 紫外检测器), N2000 色谱工作站。

乙腈为色谱纯, 其余为分析纯。盐酸脱氢延胡

索碱由浙江省药检所惠赠, 纯度 99.5%。元胡药材购自杭州中药饮片厂 (批号: 20051204, 20060706, 20061207, 20070812)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Diamonsil C-18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈-0.2% 醋酸 (18:82) 为流动相; 检测波长为 340 nm; 流速 1 mL · min⁻¹; 柱温 30 °C; 在此条件下能得到较好分离, 见图 1。

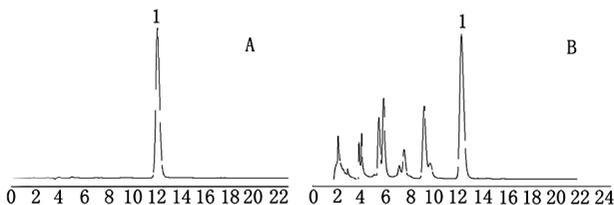


图 1 盐酸脱氢延胡索碱的高效液相色谱图
A-盐酸脱氢延胡索碱对照品; B-元胡药材; 1-盐酸脱氢延胡索碱

Fig 1 HPLC Chromatograms of dehydrocorydaline
A-control of dehydrocorydaline; B- *Rhizoma Corydalis*; 1-dehydrocorydaline

基金项目: 浙江省科技厅重点项目资助 (2005F12025)

作者简介: 陈峰阳, 男, 医学硕士 Tel: (0571) 88215624

E-mail: chenfy_hz@126.com

* 通信作者: 李晓誉, 男, 副研究员

Tel: (0571) 88215624

Email: Lixiaoyu58@21cn.com

2.2 对照品溶液的制备

精密称取盐酸脱氢延胡索碱对照品适量,加甲醇制成每1 mL含32.608 μg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取元胡药材粉末约1.0 g,置50 mL量瓶中,加0.1 mol·L⁻¹盐酸80%甲醇溶液至刻度,超声30 min,冷却至室温,补足减失的溶剂,摇匀,滤过,精密量取续滤液15 mL置25 mL量瓶中,用氨水调pH至中性,加0.2%醋酸溶液至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察

取盐酸脱氢延胡索碱对照品适量,加甲醇至每1 mL含203.8 μg 的溶液,分别精密量取1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,8.0,10.0 mL置25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,各进样20 μL ,测定峰面积,以峰面积/1 000为纵坐标(Y),盐酸脱氢延胡索碱进样量为横坐标(X)作线性回归,线性范围0.163 0~1.630 4 μg ,回归方程为: $y = 1\,553.5x + 1.306\,1$, $r = 0.999\,9$ 。

2.5 仪器精密度试验

取每1 mL含32.608 μg 的对照品溶液20 μL ,连续进样6针,盐酸脱氢延胡索碱峰面积RSD为0.71%。

2.6 溶液稳定性试验

取供试品溶液,分别在0,1,2,3,4,7 h进样,盐酸脱氢延胡索碱峰面积RSD为0.92%,表明供试品溶液在7 h内稳定。

2.7 精密度试验

取同一批元胡药材,按“2.3”项下制备,于同一日内和不同日间(6 d内,每日测定1次)分别测定含量6次,计算日内和日间精密度。测得日内盐酸脱氢延胡索含量分别为2.36,2.33,2.39,2.36,2.35,2.33 mg·g⁻¹,RSD为1.00%;日间盐酸脱氢延胡索含量分别为2.36,2.31,2.30,2.34,2.37,

表3 不同溶剂提取比较

Tab 3 Extract results of different solvent

| 不同溶剂 超声30 min | 药材盐酸脱氢 延胡索碱含量/mg·g ⁻¹ | 不同溶剂回流 90 min | 药材盐酸脱氢延 胡索碱含量/mg·g ⁻¹ |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸甲醇溶液 | 1.56 | 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸甲醇溶液 | 2.33 |
| 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸80%甲醇溶液 | 2.36 | 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸80%甲醇溶液 | 1.91 |
| 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸50%甲醇溶液 | 2.29 | 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸50%甲醇溶液 | 2.23 |
| 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸水溶液 | 2.06 | 0.1 mol·L ⁻¹ 盐酸水溶液 | 2.04 |
| 甲醇 | 0.33 | 甲醇 | 1.13 |
| 80%甲醇溶液 | 1.66 | 80%甲醇溶液 | 2.16 |
| 50%甲醇溶液 | 2.13 | 50%甲醇溶液 | 1.90 |
| 水 | 1.03 | 水 | 1.10 |

2.33 mg·g⁻¹,RSD为1.17%。

2.8 加样回收率试验

取元胡药材9份,分别按低、中、高三个量级加入盐酸脱氢延胡索对照品,按“2.3”项下制备,分别进样20 μL ,计算得回收率为97.9%,RSD为1.38%。见表1。

2.9 样品含量测定

按拟定方法进对照品溶液和供试品溶液各20 μL ,测定样品中盐酸脱氢延胡索碱含量。见表2。

表1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

| 药材中脱氢延胡 索碱的量/ μg | 实测值 / μg | 加入的脱氢延胡 索碱的量/ μg | 回收率 % | 平均回收率 /% | RSD/% |
|--------------------------------|------------------------|--------------------------------|----------|-------------|-------|
| 1 186.8 | 2 088.8 | 917.1 | 98.4 | | |
| 1 186.1 | 2 094.3 | 917.1 | 99.0 | | |
| 1 179.2 | 2 085.1 | 917.1 | 98.8 | | |
| 1 181.2 | 2 287.6 | 1 141.3 | 96.9 | | |
| 1 180.3 | 2 272.2 | 1 141.3 | 95.7 | 97.9 | 1.38 |
| 1 180.4 | 2 309.2 | 1 141.3 | 98.9 | | |
| 1 180.5 | 2 521.0 | 1 385.8 | 96.7 | | |
| 1 178.4 | 2 517.9 | 1 385.8 | 96.7 | | |
| 1 179.7 | 2 565.4 | 1 385.8 | 100.0 | | |

表2 药材含量测定(n=6)

Tab 2 Results of sample determination (n=6)

| 批号 | 盐酸脱氢延胡索碱含量/mg·g ⁻¹ | RSD/% |
|----------|-------------------------------|-------|
| 20051204 | 2.36 | 1.00 |
| 20060706 | 1.67 | 1.46 |
| 20061207 | 1.75 | 1.22 |
| 20070812 | 1.84 | 1.26 |

3 讨论

笔者曾经试过用水,甲醇,50%甲醇,80%甲醇以及0.1 mol·L⁻¹盐酸水溶液,0.1 mol·L⁻¹盐酸甲醇溶液,0.1 mol·L⁻¹盐酸50%甲醇溶液,0.1 mol·L⁻¹盐酸80%甲醇溶液等8种溶剂进行回流和超声提取比较,从药材中盐酸脱氢延胡索碱含量来判断提取效率,结果是0.1 mol·L⁻¹盐酸80%甲醇溶液超声30 min提取效果最好。见表3。

REFERENCES

- [1] Ch P (2005), Vol I(中国药典 2005 年版一部) [S], 2005:94.
- [2] FU X Y. Chemical studies on the alkaloids from YUANHU (Corydalis Turtschaninovii Bess. F. YANHUSUO Y. H. CHOU ET C. C. HSU VI. Seperation and determination of 6 tertiary alkaloids in YUANHU by RP-HPLC [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 1986, 21(7):527-531.
- [3] FU X Y. Chemical studies on the alkaloids from Yuanhu. Determination of tetra-alkaloids in Yuanhu by RP-HPLC [J]. Chin J of Pharm Anal(药物分析), 1986, 6(4):195-198.
- [4] ZHU C C. Rp-HPLC determination of 3 alkaloids of Yuanhu [J]. China J Chin Mat Med(中国中药杂志), 1994, 19(2):77-79.

收稿日期:2007-07-12