HPLC 法测定延胡索中延胡索乙素的含量

龚　青　周　蒂[1]　王碧娟[2](杭州 310004 浙江省药品检验所;[1] 海南养生堂药业公司;[2] 浙江中医学院 98 毕业实习生)

摘要　目的:对延胡索中的延胡索乙素进行含量测定。方法:采用 HPLC 法,以 C_{18}-ODS 为色谱柱,甲醇-0.1 %磷酸(用三乙胺调 pH 至 6.0)(60∶40)为流动相,检测波长为 280nm。结果:延胡索乙素的量在 0.257 ~ 2.056μg 范围内线性良好,回收率为 99.03 %, *RSD* 为 0.51 %。结论:该方法简便、可靠,适合延胡索的质量控制。

关键词　延胡索;延胡索乙素;HPLC;含量测定

Assay of tetrahydropalmatine in yanhusuo by HPLC

Gong Qing(Gong Q), Zhou Di(Zhou D), Wang Bijuan(Wang BJ)(*Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou* 310004)

ABSTRACT　**OBJECTIVE:** To determine the content of tetrahydropalmatine in the yanhusuo. **METHODS:** HPLC method was selected to determine the content. The separation was performed on an analytical C_{18}-ODS column. The mobile phase was methanol-0.1 % phosphoric acid(adjusted to PH 6.0 with triethylamine)(60∶40). The UV detector was set at 280nm. **RESULTS:** The calibration curve of tetrahydropalmatine was linear between 0.257 ~ 2.056μg. The average recovery was 99.03 % with *RSD* 0.51 %. **CONCLUSION:** This method was proved to be simple and reliable, and can be used for the quality control of yanhusuo.

KEY WORDS　terahydropalmatine, yanhusuo, HPLC, assay

延胡索为罂粟科紫堇属植物延胡索(Corydalis yanhusuo W.T. Wang)的块茎。其主要成分为延胡索甲素、乙素、丙素、丁素、戊素、辛素、壬素、癸素、子素、丑素、寅素、β-高白屈菜碱、黄连碱、延胡索胺碱等。其中

http://www.chinjmap.com

以延胡索乙素(tetrahydropalmatione)的镇痛作用较强[1]。延胡索乙素测定方法有分光光度法[2]、薄层扫描法[3,4]、旋光法[5]、荧光法[6]等。本文采用高效液相色谱法测定了延胡索乙素的含量,方法简便、准确,重现性好。

1 仪器与试药

Shimadzu LC-10A 型高效液相色谱仪,Shimadzu SPD-10A 紫外检测器,Shimadzu C-R7A 色谱处理机。

延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所),延胡索(浙江),所用试剂均为分析纯。

2 色谱条件

流动相:甲醇-0.1%磷酸(用三乙胺调 PH 至 6.0)(60∶40),色谱柱:Shim-pack CLC-ODS C_{18}(0.15m × 6.0 ϕ),流速:1.0ml/min,波长:280nm,纸速:2mm/min,进样量:20μl。

3 线性关系的考察

精密称取五氧化二磷减压干燥过夜的延胡索乙素对照品 25.7mg,置 100ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。分别吸取对照品溶液 1,2,4,6 和 8μl 进行分析,以峰面积为纵坐标,以对照品的量(μg)为横坐标,绘制标准曲线(见图 1),其回归方程为:$Y = 704.7 + 808363.6X$,$r = 0.9999$。表明延胡索乙素在 0.257 ~ 2.056μg 之间具有良好的线性关系。

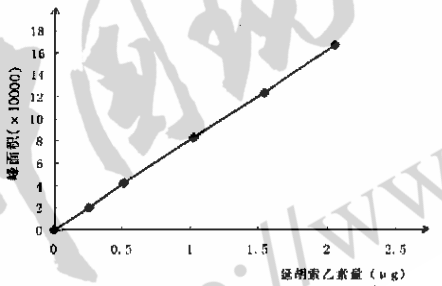

图 1 延胡索乙素标准曲线图

4 回收率实验

采用加样回收率法,精密称取已知含量的延胡索样品 1g,分别精密加入适量延胡索乙素对照品,按"样品测定"相下操作,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品号	样品延胡索乙素的量/mg	加入延胡索乙素的量/mg	测得延胡索乙素的量/mg	回收率/%	平均回收率
1	0.4231	0.5045	0.9255	99.58	
2	0.4223	0.5045	0.9241	99.46	
3	0.4232	0.5045	0.9203	98.53	99.03%
4	0.4350	0.5045	0.9363	99.37	*RSD* = 0.51%
5	0.4298	0.5045	0.9286	98.87	
6	0.4325	0.5045	0.9289	98.39	

5 精密度试验

取延胡索乙素对照品,用甲醇制成每 1ml 中含 40μg 的溶液,精密吸取 20μl 重复进样 6 次,测峰面积,计算 *RSD* 为 0.39%。

6 重现性试验

精密称取样品 2g,按"样品测定"相下操作,在相同条件下测定同一批号样品 6 份,计算含量,其 *RSD* 为 1.25%。

7 样品含量测定

精密称取样品 2g,置锥形瓶中,精密加入甲醇 20ml,称定重量,超声处理 30min,冷却,称重,加甲醇补足重量,用微孔滤膜过滤,精密吸取 20μl 注入色谱柱,按外标峰面积法计算延胡索乙素的含量,结果见表 2。其 HPLC 图谱见图 2,3。

表 2 延胡索乙素含量测定结果

样品号	每 g 含延胡索乙素/mg	样品号	每 g 含延胡索乙素/mg
1	0.387	6	0.594
2	0.517	7	0.402
3	0.614	8	0.621
4	0.659	9	0.626
5	0.425	10	0.485

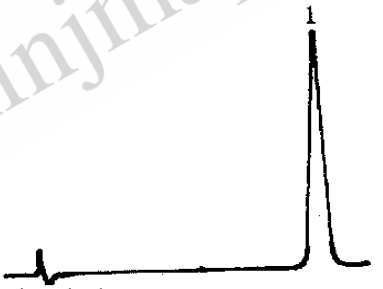

图 2 延胡索乙素对照品 HPLC 图

1 - 延胡索乙素

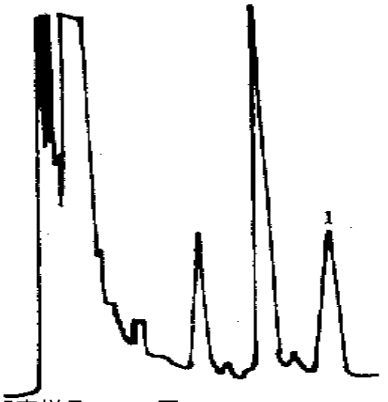

图 3 延胡索样品 HPLC 图

http://www.chinjmap.com

8 结果与讨论

8.1 提取溶剂和时间的选择　以甲醇、乙醇、乙醚为溶剂,分别超声处理 20,30 和 40 min,实验结果表明,用甲醇超声处理 30 min 可提取完全。

8.2 稳定性考察　取延胡索乙素对照品,在 0,0.5,1,3,5,7 和 24h 分别测定,其 *RSD* 为 1.2%,说明稳定性较好。

8.3 通过测定 10 批样品,结果延胡索乙素含量相差较大,故通过含量测定可有效地控制质量。

参考文献

1 沙世炎,徐礼燊,严敏如,等.中草药有效成分分析法.上册.北京:人民卫生出版社,1985:53.

2 曾丽修.分光光度法测定颅痛定片剂的含量.药物分析杂志,1984,4(1):39.

3 朱敏.元胡类生物碱的高效薄层层析定量研究.药物分析杂志,1985,5(3):139.

4 傅小勇,梁文藻,涂国士.元胡生物碱的化学研究.药物分析杂志,1985,5(4):194.

5 杨晓平.旋光法测定罗痛定片剂的含量.药物分析杂志,1986,6(3):176.

6 庞志功,汪宝琪,黄泓.SLS-胶束荧光法测定元胡中延胡索乙素的含量.中国药科大学学报,1993,24(6):345.

收稿日期:1998-09-07