

HPLC 法测定肾康颗粒中延胡索乙素

陈刚¹, 马莉^{2*}, 韩锋², 杨春辉³

1. 南通市中医院, 江苏 南通 226001
2. 天津药物研究院, 天津 300193
3. 天津大学 化工学院, 天津 300072

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定肾康颗粒中延胡索乙素的方法。方法 采用 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-乙腈-1%醋酸铵缓冲液 (pH 5.0±0.02) (12:28:60) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 283 nm。结果 延胡索乙素在 0.077 76~1.555 20 μg 线性良好 ($r=0.999\ 9$), 样品平均加样回收率和 RSD 值分别为 99.6%、1.91%。结论 此方法简便、准确、重现性良好, 可用于肾康颗粒中延胡索乙素的测定。

关键词: 肾康颗粒; 延胡索乙素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)05-0406-03

Determination of tetrahydropalmatine in Shenkang Granula by HPLC

CHEN Gang¹, MA Li², HAN Feng², YANG Chun-hui³

1. Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nantong 226001, China
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for determination of tetrahydropalmatine in Shenkang Granula. **Methods** Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-1% ammonium acetate (pH 5.0±0.02) (12:28:60). The flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was at 283 nm. **Results** The linear range of tetrahydropalmatine was 0.077 76—1.555 20 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 99.6% and RSD was 1.91%. **Conclusion** This method is simple, precise, and with good repeatability, and can be used to determine tetrahydropalmatine in Shenkang Granula.

Key words: Shenkang Granula; tetrahydropalmatine; HPLC

肾康颗粒是由延胡索、徐长卿、鸡血藤等 20 味中药加工制成, 具有滋阴清热、温肾补气、通络祛邪之功效, 用于治疗发热, 筋骨疼痛, 屈伸不利等风寒顽痹, 临床观察具有行气、活血、止痛、益肾之疗效。延胡索乙素是延胡索生物碱中具有较强镇痛作用的成分^[1], 因此延胡索乙素作为控制质量的指标之一被广泛应用于中药制剂的质量评价^[2-3]。为了控制产品质量, 本实验建立了 HPLC 法测定肾康颗粒中延胡索乙素的方法。

1 仪器与材料

HP1100 液相色谱仪, HP1100 色谱工作站, G1310A 泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1314A 紫外检测器; 延胡索乙素对照品 (中国药

品生物制品检定所, 批号 0726-200208); 石油醚 (60~90 °C, 分析纯), 甲醇、乙腈 (色谱纯), 肾康颗粒 (本院自制, 批号分别为 110312、110415、110417), 纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-1%醋酸铵缓冲液 (pH 5.0±0.02) (12:28:60), 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 35 °C, 检测波长 283 nm。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取延胡索乙素对照品 6.48 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为

收稿日期: 2011-08-29

作者简介: 陈刚, 男, 主管中药师, 1994年毕业于沈阳药科大学中药制药专业, 从事中药制剂工作。

*通讯作者 马莉 Tel: 13920788162 E-mail: zhihua504@163.com

对照品贮备液 (0.259 2 mg/mL)。精密吸取对照品贮备液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 25.92 $\mu\text{g/mL}$ 延胡索乙素对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品研细, 取约 4 g, 精密称定, 置平底烧瓶中, 加入浓氨试液 5 mL 浸润, 加石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$) 50 mL 在水浴上加热回流提取 3 次, 每次回流 30 min, 取下, 放冷, 滤过, 用石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$) 10 mL 分两次洗涤残渣, 洗液并入滤液中, 减压浓缩至干, 用甲醇溶解残渣, 转移至 10 mL

量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按本品处方及工艺制备延胡索缺味样品, 照供试品溶液的制备项下方法处理, 即得阴性对照溶液。

2.5 干扰试验

分别吸取延胡索乙素对照品溶液、肾康颗粒供试品溶液、阴性对照溶液各 15 μL , 注入液相色谱仪, 测定, 结果延胡索乙素对照品、肾康颗粒供试品在 13 min 左右出现延胡索乙素吸收峰, 阴性对照无干扰。结果见图 1。

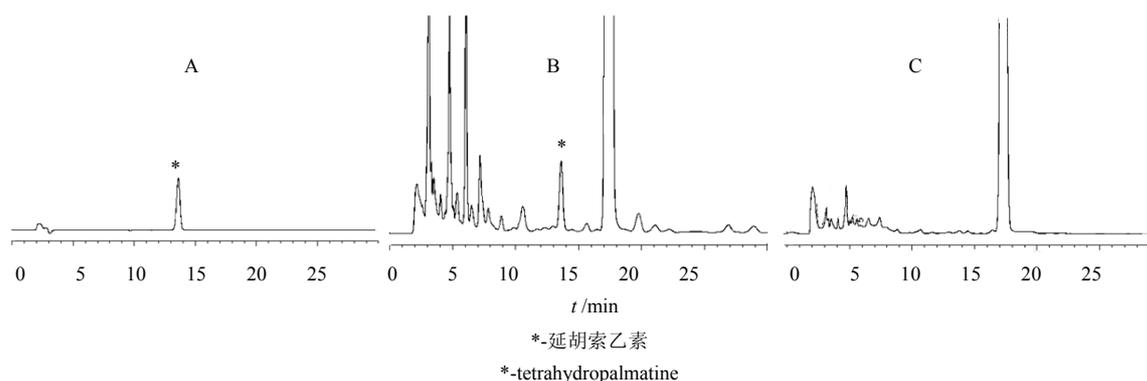


图 1 延胡索乙素对照品 (A)、肾康颗粒 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of tetrahydropalmatine reference substance (A), Shenkang Granula (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系考察

分别精密量取 0.259 2 mg/mL 延胡索乙素对照品贮备液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。分别进样 15 μL , 测定。以进样的质量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得线性回归方程 $Y=893.02 X-4.503 5$ ($r=0.999 9$), 结果表明延胡索乙素在 0.077 76~1.555 20 μg 线性关系良好。

2.7 精密度试验

取批号 110312 样品, 制备供试品溶液, 精密吸取 15 μL , 连续进样 6 次, 测定延胡索乙素的峰面积, 计算得其 RSD 值为 1.54%。

2.8 稳定性试验

取批号 110312 样品, 制备供试品溶液, 精密吸取 15 μL , 分别于 2、4、8、12、24 h 进样, 测定延胡索乙素的峰面积, 计算得其 RSD 值为 0.85%。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 重现性试验

取批号 110312 样品 6 份, 精密称定, 制备供试

品溶液, 按上述色谱条件进样, 测定延胡索乙素的峰面积, 计算得延胡索乙素的质量分数为 0.085 mg/g, RSD 值为 1.79%。

2.10 加样回收率试验

取批号 110312 肾康颗粒样品 6 份, 每份 2.2 g, 精密称定, 分别加入延胡索乙素对照品 0.166 8 mg, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.6%, RSD 值为 1.91%。

2.11 样品测定

取不同批号的肾康颗粒样品, 制备供试品溶液, 进样测定, 以外标法计算肾康颗粒中延胡索乙素, 结果见表 1。

表 1 肾康颗粒中延胡索乙素的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of tetrahydropalmatine in Shenkang Granula ($n=3$)

批号	延胡索乙素/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
110312	0.085
110415	0.078
110417	0.096

3 讨论

肾康颗粒中含有较多成分,为减少杂质并避免其对主峰的干扰,对供试品溶液制备中的提取方法进行了研究。采用80%乙醇回流提取后,再用乙醚萃取,与氨水-石油醚直接提取的测定结果无明显差异,但乙醚萃取的操作较复杂,且杂质较多,因此采用氨水-石油醚直接提取的方法。加热回流时间对测定结果有影响,随着加热时间的延长而延胡索乙素的质量分数降低,可能是由于延胡索乙素对热不稳定,故需对加热回流时间、次数进行优选,最后确定回流提取3次,每次30 min^[4]。

延胡索乙素为生物碱,在流动相中加入一些碱性物质可以防止其解离。在实际操作中参考有关文献报道^[4-6],首先选择了甲醇-0.1%磷酸溶液(三乙胺调pH 6.0)(55:45)作为流动相进行尝试,但此方法的分离效果不佳。经过不断尝试,并结合药味相关性,最终采用甲醇-乙腈-1%醋酸铵缓冲液(pH 5.0±0.02)(12:28:60)。结果显示,此法保

留时间合适,分离度较好,防止了拖尾现象,峰型也比较理想,同时醋酸铵溶液对仪器的损害也相对较小。

参考文献

- [1] Yang Z, Shao Y C, Li S J, et al Medication of *l*-tetrahydropalmatine significantly ameliorates opiate craving and increases the abstinence rate in heroin users: a pilot study [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(7): 781-788.
- [2] 闫小青,董林毅. HPLC法测定伤痛宁胶囊中延胡索乙素 [J]. *中草药*, 2010, 41(7): 1109-1110.
- [3] 杨书良,田凤,孙婷. HPLC法测定延胡索止痛滴丸中延胡索乙素 [J]. *中草药*, 2006, 37(12): 1810-1811.
- [4] 柯鹏颀,李湘力,黄鸣清,等. HPLC法测定舒筋片中的延胡索乙素含量 [J]. *海峡药学*, 2006, 18(4): 76-78.
- [5] 许菊. 胃灵合剂中延胡索乙素含量测定 [J]. *海峡药学*, 2009, 21(8): 44-46.
- [6] 韩建伟,张莉,高小春. HPLC法测定复方元胡止痛膏贴中延胡索乙素含量 [J]. *中国药师*, 2009, 12(5): 621-623.

“十二五”国家重点图书出版规划项目《植物药活性成分大辞典》即将出版



植物中的活性成分是植物药发挥疗效的物质基础,植物活性成分研究是阐释植物药的生物活性、临床疗效和毒性的必要手段,也是新药发现和创制的可行途径,更是中药药效物质基础研究、质量控制以及配伍合理性及作用规律研究的前提和基础。近些年来,随着国际上植物化学以及天然药物化学学科的迅速发展,大量的植物活性成分被研究和报道,形成大量、丰富的植物活性成分研究的信息源。但是,这些资料作为原始文献散在于成千上万的中外学术期刊上,不能满足读者对植物活性成分的系统了解、方便查阅和迅速掌握的需要。

天津药物研究院在国家科技部和原国家医药管理局新药管理办公室支持下,在建立“植物活性成分数据库”的基础上,组织科研人员经过几年的艰苦努力编纂了大型工具书《植物药活性成分大辞典》。

本套书分上、中、下共3册,共收载植物活性成分8719个,约700万字。正文中每个活性成分包含英文正名、中文正名、异名、化

学名、结构式、分子式和相对分子质量、理化性状(晶型、熔点、溶解性、旋光、紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱)、植物来源、生物活性等内容。并于下册正文后附有3种索引——植物药活性成分中文名、植物药活性成分英文名和植物拉丁学名索引。

全书涵盖大量国内外专业期刊的翔实数据,内容丰富、信息量大,具有反映和体现信息趋时、简便实用的特色;编者在注重数据科学性、系统性的同时,着眼于全球药物研发前沿需求和我国市场实际应用的结合,为研究人员选题、立项、准确评价成果提供快速、简便、有效的检索途径,为植物药的开发、利用提供疗效优异、结构独特的活性分子或先导化合物。

该书已批准列入“十二五”国家重点图书出版规划项目,将于2011年8月由人民卫生出版社出版发行,大16开精装本,预计每套定价650元。