

jing People's Medical Publishing House, 1986.

[8] He G X, Pei G, Feng Y B, et al. Determination of dihydromyricetin in *Ampelopsis grossedentata* [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2000, 23(4): 210-212.

[9] He G X, Pei G, Zhou T D, et al. Determination of total flavonoids and dihydromyricetin in *Ampelopsis grossedentata* (Hand-Mazz) W. T. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(7): 423-425.

苦地丁提取物中原阿片碱和延胡索乙素的 HPLC 分析

张经硕,周巧霞,徐丽华,顾振纶*
(苏州中药研究所,江苏 苏州 215007)

苦地丁为罂粟科植物紫堇 *Corydalis bungeana* Turcz. 的干燥全草,含有多种生物碱,其中原阿片碱和延胡索乙素是主要有效成分^[1],具有抑制血小板聚集,松弛平滑肌,抗心律失常,解痉止痛等药理作用^[2]。原阿片碱和延胡索乙素的测定方法,文献报道有薄层扫描法^[3]。本实验建立了苦地丁提取物中原阿片碱和延胡索乙素的 RP-HPLC 法,结果较为满意。

1 仪器与试剂

Waters 501 高效液相色谱仪 (WDL-95 色谱工作站, Waters 484 紫外检测器, Waters 7725_i 进样阀); Sartorius BS110S 电子天平 (万分之一); JHN-2A 型超声清洗器 (上海杰恩普超声设备有限公司); PHS-3C 型精密 pH 计 (上海精密科学仪器有限公司雷磁仪器厂)。

重蒸水,冰醋酸,三乙胺,氨水均为分析纯,甲醇为色谱纯。苦地丁药材购于安徽亳州药材市场 (产地为江西),经本所鉴定;原阿片碱对照品和延胡索乙素对照品为本所自制 (已经四谱鉴定,且纯度 > 98%);苦地丁提取物为本所自行提取。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备:精密称取原阿片碱和延胡索乙素对照品各约 5 mg,置 25 mL 量瓶中,加 2% 醋酸使溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 供试品溶液制备:精密称取苦地丁提取物约 12.5 mg,置 25 mL 量瓶中,加 2% 醋酸使溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 色谱条件的选择

2.3.1 pH 的影响:分别配制 pH 值为 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 % 氨水-甲醇 (50:50, 冰醋酸调 pH 值) 作为流动相,分析供试品溶液。结果表明: pH 在 6.0~6.5 时原阿

片碱和延胡索乙素的峰形和分离度较好; pH 降低,峰形变窄,保留时间缩短,但原阿片碱和延胡索乙素两峰部分重叠; pH 升高,峰形变宽,保留时间延长。故选择 pH 为 6.30 左右。

2.3.2 氨水浓度的影响:分别配制含氨水 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% 的流动相,分析供试品溶液。结果表明:氨水由 0.2% 增加到 0.4% 时,峰形变窄,分离度变好;由 0.4% 增加到 0.6%、0.8% 时,峰形和分离度无明显变化。故选用氨水浓度为 0.4%。

2.3.3 三乙胺浓度的影响:分别配制含三乙胺 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0% 的流动相,分析供试品溶液。结果表明:加入三乙胺后,峰形变窄,分离度变大,保留时间缩短;三乙胺由 0.2% 增加到 0.8% 时,峰形、分离度和保留时间持续改善;由 0.8% 增加到 1.0% 时,峰形、分离度和保留时间无明显变化。故选择三乙胺为 0.8%。

2.3.4 甲醇浓度的影响:分别配制甲醇-水不同比例的流动相,分析供试品溶液。结果表明:甲醇比例增加,分离度变差,故选择甲醇-水 (50:50)。

2.4 色谱条件:色谱柱: Waters C₁₈ 柱 (填料: μ BandapakTM; 粒径: 10 μ m; 规格: 300 mm \times 3.9 mm); 流动相: 甲醇-水-三乙胺-氨水 (50:50:0.8:0.4, 冰醋酸调 pH 6.30 左右); 检测波长: 285 nm; 流速: 0.9 mL/min; 灵敏度: 0.100 AUFS; 柱温: 室温 (25 $^{\circ}$ C)。

2.5 标准曲线的制作:精密吸取不同浓度的原阿片碱对照品溶液 (0.015, 0.03, 0.06, 0.12, 0.24, 0.48 mg/mL) 和延胡索乙素对照品溶液 (0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64 mg/mL) 5 μ L 分别注入高效液相色谱仪测定峰面积。以峰面积对浓度作图,求得标准曲线回归方程。原阿片碱: $Y = 2.876 \times 10^6 X - 5416.559$ ($r = 0.9999$); 延胡索乙素: $Y = 1.319 \times$

$10^6 X - 2\ 618.384$ ($r = 0.999\ 9$)。以上结果表明:原阿片碱在 $0.015 \sim 0.48\ \text{mg}/\text{mL}$ 呈良好线性关系,延胡索乙素在 $0.02 \sim 0.64\ \text{mg}/\text{mL}$ 呈良好线性关系。

2.6 精密度试验:将原阿片碱 ($0.12\ \text{mg}/\text{mL}$) 和延胡索乙素 ($0.16\ \text{mg}/\text{mL}$) 对照品溶液连续进样 5 次,其峰面积 RSD 分别为 1.66% 和 2.28%。

2.7 重现性试验:配制同一批号供试品溶液 5 份,各吸取 $5\ \mu\text{L}$ 进样分析,求得含量,原阿片碱和延胡索乙素含量的 RSD 分别为 0.65% 和 1.03%。

2.8 稳定性试验:取供试品溶液分别于配制后 0, 1, 3, 5, 21, 23, 25 h 依法测定,原阿片碱和延胡索乙素的峰面积 RSD 分别为 0.66% 和 0.98%。

2.9 回收率测定:采用加样回收法。精密称取已知含量苦地丁提取物 2.9 mg, 分别精密加入原阿片碱对照品溶液 ($0.532\ \text{mg}/\text{mL}$) 3.2 mL 和延胡索乙素对照品溶液 ($0.425\ \text{mg}/\text{mL}$) 2.0 mL, 用 2.0% 醋酸加至 25 mL, 按以上色谱条件测定, 计算回收率。结果原阿片碱平均回收率为 99.2%, RSD = 1.63% ($n = 5$); 延胡索乙素平均回收率为 100.1%, RSD = 2.34% ($n = 5$)。

2.10 样品分析:取苦地丁提取物约 12.5 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 2% 醋酸使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 按以上色谱条件测定, 结果见表 1 及图 1。

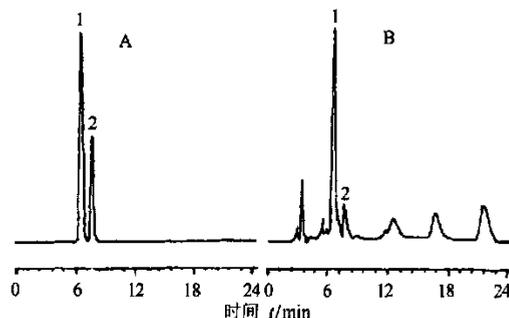
3 讨论

经不同品牌的 C_{18} 色谱柱测试, 本法的重现性较好。本法曾用于不同产地苦地丁提取物的含量测定, 色谱分离度及峰形均较好。

表 1 苦地丁提取物中原阿片碱和延胡索乙素含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Determination of protopine and tetrahydropalmatine in *C. bungeana* extracts ($n = 3$)

批号	原阿片碱含量 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	延胡索乙素含量 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
010825	363.1	82.6
010910	359.2	90.2
010924	354.3	95.8



1-原阿片碱 2-延胡索乙素

1-protopine 2-tetrahydropalmatine

图 1 混合对照品 (A) 和苦地丁提取物 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *C. bungeana* extract (B)

References

- [1] Zhou J M, Yu C J, Cao Y, et al. Study on effective constituents in *Corydalis shearerii* S. Moore [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 12(3): 3-4.
- [2] Deng M, Song X Y, Wang J F. Progress in studies on pharmacological effect of protopine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(3): 275-277.
- [3] He L Y, Zhang Y B. Separation by TLC and determination by optical density of six kind isoquinoline alkaloids in *Corydalis bungeana* Turcz. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1985, 20(5): 377.

RP-HPLC测定蚊肝康颗粒中栀子苷的含量

戴向东*

(广西药品检验所, 广西南宁 530021)

蚊肝康颗粒由茵陈、黑蚂蚁、栀子等 13 味中药提取精制而成, 具有清热利湿、疏肝理气、活血止痛之功能, 用于保肝护肝并对各种急慢性肝炎所致肝功能损害有效。方中臣药栀子具有清热利尿、凉血解毒作用, 其主要成分为栀子苷。《中华人民共和国药典》2000 版一部收载有 HPLC 测定栀子中栀

子苷含量的方法。为有效控制药品质量, 本实验建立了 RP-HPLC 测定蚊肝康颗粒中栀子苷含量的方法。

1 仪器与试剂

Waters 600 型高效液相色谱仪, Waters 717 型自动进样器, Waters 2487 型紫外检测器, Waters

* 收稿日期: 2003-05-22

作者简介: 戴向东 (1968-), 广西恭城人, 主管药师, 从事化学分析及药品质量标准研究。Tel (0771) 2611940