

HPLC 法测定阿尔泰新牡丹中盐酸巴马汀

艾则孜·莫合买提¹, 巴哈尔古丽·黄尔汗²

1. 新疆食品药品检验所, 新疆 乌鲁木齐 830000

2. 新疆阿勒泰地区药品检验所, 新疆 阿勒泰 836500

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定阿尔泰新牡丹中盐酸巴马汀的方法。方法 采用 Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%磷酸 (含 0.05%十二烷基硫酸钠) (60:40) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 265 nm。结果 盐酸巴马汀在 27.1~813.0 μg 线性关系良好 ($r=0.9999$), 重现性好, 平均回收率为 98.9% ($n=5$), RSD 为 1.2%。结论 本方法简便准确, 可用于阿勒泰新牡丹药材中盐酸巴马汀的测定。

关键词: 阿尔泰新牡丹; 盐酸巴马汀; 高效液相色谱法; 重现性; 平均回收率

中图分类号: R286.02 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)06-1147-02

Determination of palmatine hydrochloride in *Gymnospermium altaicum* by HPLC

AZIZ Mohammad¹, BAHARGULI Huang er han²

1. Xinjiang Institute for Food and Drug Control, Urumqi 830000, China

2. Xinjiang Aletai Institute for Drug Control, Aletai 830000, China

Key words: *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach; palmatine hydrochloride; HPLC; reproducibility; average recovery rate

阿尔泰新牡丹 *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach 为小檗科牡丹草属植物。主要分布于俄罗斯西伯利亚, 中国新疆阿勒泰地区喀纳斯景区, 为多年生草本植物。本植物记载于民间医学中, 块茎用于癫痫病, 叶汤用作感冒发汗。2007年8月27日, 本药材被列入中国新疆维吾尔自治区重点保护野生植物名录。国内外未见其化学成分的研究报道。目前, HPLC 法已经广泛应用于中药材的质量分析^[1-3]。本实验采用 HPLC 法测定阿勒泰新牡丹中盐酸巴马汀的量, 为阿尔泰新牡丹药材基础研究和质量控制提供一种可借鉴的方法。

1 仪器与试剂

Waters Breeze 高效液相色谱仪, 2487 紫外检测器, Breeze 色谱工作站, AG135 型十万分之一电子分析天平 (Mettler Toledo 仪器有限公司), KLZ-UP 超纯水仪 (台湾艾柯成都康宁实验专用纯水设备厂)。

盐酸巴马汀对照品 (批号 110732-200907, 质量分数为 86.1%) 购自中国药品生物制品检定所; 阿勒泰新牡丹产于阿勒泰市吉克村, 由新疆阿勒泰地区药品检验所巴哈尔古丽·黄尔汗提供; 磷酸、十二烷基磺酸钠为分析纯, 甲醇、乙腈为色谱纯; 其

他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸 (含 0.05%十二烷基硫酸钠) (60:40); 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 265 nm; 进样量为 10 μL; 柱温为室温。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取盐酸巴马汀对照品适量, 用甲醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中, 摇匀即得 27.1 μg/mL 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量, 研细过 60 目筛, 取 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇 (1:100) 混合溶液 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用盐酸-甲醇 (1:100) 混合溶液补足减失质量, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 线性关系及最低检测限

2.3.1 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1、2、3、5、10、20、30 μL, 依法测定, 分别以对照

收稿日期: 2011-01-16

作者简介: 艾则孜·莫合买提 (1971—), 男, 副主任药师, 主要从事中药与民族药活性成分和质量标准研究。E-mail: Qabdas@163.com

品量 (X , μg) 对色谱峰面积 (Y) 进行线性回归, 计算得盐酸巴马汀回归方程为: $Y=3 \times 10^{-7}X+0.0076$, $r=0.9999$ 。结果表明盐酸巴马汀在 $27.1 \sim 813.0 \mu\text{g}$ 呈良好线性关系。

2.3.2 最低检测限 将盐酸巴马汀对照品溶液逐步稀释后, 以信噪比 (S/N) 为 3.0 时的进样量为最低检测限, 即 2.70 ng 。

2.4 精密性试验

精密吸取盐酸巴马汀对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 连续进样 5 次, 测定色谱峰面积。计算盐酸巴马汀峰面积的 RSD 为 0.6%。

2.5 稳定性试验

取 1 号样品, 制备供试品溶液, 0、1、3、6、10、12 h 分别进样 $10 \mu\text{L}$, 测定色谱峰面积, 计算盐酸巴马汀峰面积的 RSD 为 1.1%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 重现性试验

取 1 号样品, 制备 5 份供试品溶液, 测定盐酸巴马汀峰面积, 计算盐酸巴马汀质量分数的 RSD 为 1.5%。

2.7 加样回收率试验

称取 1 号样品 9 份, 每份 0.2 g , 精密称定, 平均分为 3 组, 每组分别精密加入 $13.55 \mu\text{g/mL}$ 盐酸巴马汀对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL, 制备供试品溶液, 依上述色谱条件测定盐酸巴马汀峰面积, 计算平均加样回收率为 98.9%, RSD 为 1.2%。

2.8 样品测定

取样品 3 批, 制备供试品溶液, 进行测定, 按外标法计算样品中盐酸巴马汀的量。结果见图 1 和表 1。

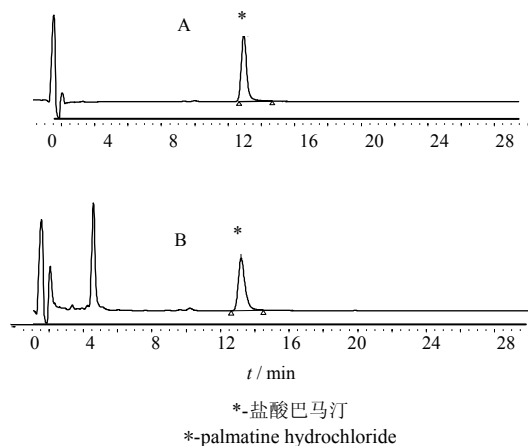


图 1 对照品 (A) 与样品 (B) 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

表 1 样品测定 ($n=3$)

Table 1 Determination of samples ($n=3$)

样品编号	盐酸巴马汀/%	RSD/%
1	0.189	0.8
2	0.166	0.7
3	0.193	1.3

3 讨论

3.1 提取方法的选择

对同一批号的样品, 比较了不同的提取溶剂如水、甲醇、50%甲醇、甲醇-盐酸 (100:1) 的水浴回流、冷浸提取、超声提取等提取方法, 其提取效果以甲醇-盐酸 (100:1) 超声提取的总体效果为佳。

同时还考察了以甲醇-盐酸 (100:1) 为提取溶剂, 不同提取时间 (10、30、50 min) 的提取效果, 结果表明, 超声 30、50 min 的提取效果没有显著差异, 均可提取完全, 故确定超声提取 30 min。

3.2 检测波长的选择

取盐酸巴马汀对照品溶液和 1 号样品的供试品溶液, 以流动相为空白在 $210 \sim 400 \text{ nm}$ 波长绘制吸收光谱图。结果表明, 盐酸巴马汀在 265 nm 和 345 nm 有最大吸收。当采用 265 nm 为检测波长时, 盐酸巴马汀的检测灵敏度高, 杂质峰较少, 基线平稳, 杂质均不干扰测定。所以选择 265 nm 为其检测波长。

3.2 流动相的选择

根据参考文献报道^[4], 对盐酸巴马汀流动相进行了筛选: 曾选用乙腈-0.1%磷酸 (60:40), 甲醇-0.1%磷酸 (60:40) 作为流动相, 结果峰形拖尾严重。选用乙腈-0.1%磷酸 (含 0.05% 十二烷基硫酸钠) (60:40) 为流动相峰形好, 基线平稳, 重现性良好。

3.3 色谱柱选择

分别采用 Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 色谱柱和 Waters Sun FireTM C₁₈ ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 色谱柱进行试验, 分离效果均良好。为了节省流动相并缩短分析时间, 最终选用 Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 色谱柱。

参考文献

- [1] 祝明, 张鹏, 唐登峰, 等. 莪术油的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 81-84.
- [2] 王平, 梁逸曾. HPLC-DAD-MS 研究黄芪的化学成分 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 226-229.
- [3] 李蓉, 秦民坚. HPLC 法测定薄叶鸢尾中 5 种异黄酮 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 297-299.
- [4] 徐新, 巴哈尔古丽·黄尔汗. 哈萨克药志 [M]. 北京: 民族出版社, 2009.