

HPLC 测定雪胆胃肠丸中的延胡索乙素

许琼明¹, 郭兆荣^{1,2}, 杨世林^{1,2,3}, 李笑然^{1*}, 高红伟¹, 董更婷¹, 王佳露⁴(1.苏州大学药学院, 江苏 苏州 215123; 2.江西中医学院, 南昌 330004; 3.中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006; 4.中国药科大学药学院, 南京 210009)

摘要: 目的 建立雪胆胃肠丸中延胡索乙素含量测定的方法。方法 采用 Hypersil ODS2 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0)(40:60)为流动相; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 225 nm; 柱温: 25 °C。结果 延胡索乙素在 4.8~48.0 μg·mL⁻¹ 内与其峰面积有良好的线性关系, 其平均回收率为 99.82%, RSD 为 1.00% (n=6)。结论 所建方

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划重点项目子课题(2006BA108B03-05)

作者简介: 许琼明, 男, 博士, 副教授 Tel: (0512)69561421 E-mail: xuqiongming@suda.edu.cn *通信作者: 李笑然, 男, 教授 Tel: (0512)65880301 E-mail: lixiaoran@suda.edu.cn

法简便易行、准确可靠,可用于雪胆胃肠丸中延胡索乙素的含量测定。

关键词: 雪胆胃肠丸; 延胡索乙素; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)05-0436-04

Determination of Trahydorpalmatine in Xuedan Weichang Pill by HPLC

XU Qiongm¹, GUO Zhaorong^{1,2}, YANG Shilin^{1,2,3}, LI Xiaoran^{1*}, GAO Hongwei¹, DONG Gengting¹, WANG Jialu⁴(1.College of Pharmacy, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2.College of Jiangxi Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 3.National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 4.College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of contents of trahydorpalmatine in Xuedan Weichang pill. **METHODS** To utilize RP-HPLC, the Hypersil ODS2 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphate acid (adjusted to pH 6.0 by triethylamine) (60 : 40). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 225 nm. The column temperature was 25 °C. **RESULTS** The linear range of trahydorpalmatine was 4.8-48.0 μg·mL⁻¹. The average recoveries was 99.82% with RSD of 1.00% (n=6). **CONCLUSION** The method established is sensitive, accurate and can be used for quality control of Xuedan Weichang pill.

KEY WORDS: Xuedan Weichang pill; trahydorpalmatine; HPLC; determination

雪胆胃肠丸是从苗族民间传统秘方中开发出来的中药复方,含有雪胆、延胡索、吴茱萸、木香、白及、黄芪等十多味中药材。经临床研究表明,雪胆胃肠丸对胃炎、萎缩性胃炎、十二指肠溃疡等疾病有独特的疗效。延胡索是雪胆胃肠丸中一味重要的药材,它具有活血散瘀、理气止痛的功效,对实验性胃溃疡有保护作用^[1]。延胡索药材中的主要活性成分是延胡索乙素,它具有很显著的镇痛作用,可以相当程度地缓解胃痛;另外,药理试验表明延胡索乙素对在体大鼠胃基础酸和组胺刺激泌酸有抑制作用,并具有明显抑制离体大鼠胃黏膜和壁细胞泌酸功能^[2]。目前,雪胆胃肠丸的质量标准中还没有对延胡索的成分进行检测控制。为了给雪胆胃肠丸生产检验提供检测指标和进一步完善其质量标准,笔者采用 HPLC 测定雪胆胃肠丸中延胡索乙素的含量。

1 仪器与试剂

日本 SHIMADZU LC-20A 高效液相色谱仪, SPD-M20A 二极管阵列检测器, LC Solution 化学工作站; N-1001 旋转蒸发仪(日本东京理化器械株式会社); EL-204 万分之一分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); SE-93 自动双重蒸馏水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂); KQ-100DE 数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。

延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 0726-200508, 供含量测定用),使用前置硅胶干燥器中干燥至恒重。甲醇、乙腈为色谱纯,氯

仿、乙醚为分析纯,水为双重蒸馏水。雪胆胃肠丸(昆明生达制药有限公司,批号: 070401, 070402, 070403)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS2(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 25 °C; 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0)(40 : 60); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 225 nm。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取延胡索乙素对照品 2.40 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制成浓度为 48 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 100 丸, 切碎, 取粉末约 5.0 g, 精密称定, 精密加入等量的硅藻土, 研匀, 精密称取 10 g, 置圆底烧瓶中, 精密加入氨水-甲醇(1 : 20)混合溶液 50 mL, 密塞, 称定重量, 冷浸 1 h 后加热回流 1 h, 取出, 放冷, 再称定重量, 用氨水-甲醇(1 : 20)混合溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 减压蒸干, 取 pH1.5 的硫酸水溶液 20 mL, 分 3 次将残渣转移至分液漏斗, 再分别加入 30, 30, 20 mL 乙醚萃取 3 次, 弃去乙醚层; 用浓氨水调 pH 至 10.0, 分别加入 30, 30, 20 mL 氯仿萃取 3 次, 合并氯仿层, 置圆底烧瓶中减压浓缩至干, 加适量甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

按处方比例称取不含延胡索的阴性样品,按上述方法制备阴性样品溶液。

2.4 系统适用性试验

分别取对照品溶液,供试品溶液及阴性对照溶液各 20 μL 进样测定。在选定色谱条件下,延

胡索乙素与样品中其他组分色谱峰可基线分离,分离度大于 1.5,按延胡索乙素峰计算,理论板数在 8 000 以上,拖尾因子为 1.04;阴性对照溶液在延胡索乙素色谱峰位置处无相应色谱峰出现。见图 1。

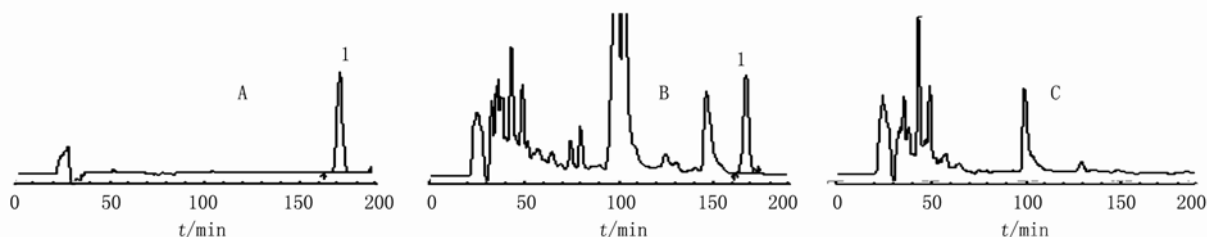


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; C-阴性样品; 1-延胡索乙素

Fig 1 HPLC chromatogram

A-control; B-sample; C-negative sample; 1-trahydorpalmatine

2.5 线性关系考察

分别精密量取“2.2”项下对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取上述溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,记录色谱图,测定其峰面积,以浓度(C)为横坐标,峰面积值(A)为纵坐标,进行线性回归,得延胡索乙素的回归方程为: $A=61\ 401.6C+540.7$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明:延胡索乙素在 4.8~48 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.6 仪器精密度试验

精密吸取上述对照品溶液,重复进样 6 次,每次 20 μL ,结果峰面积 RSD 为 1.04%。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液,分别于 0, 3, 6, 12, 24 h 进样,每次 20 μL ,结果峰面积 RSD 为 1.46%。

2.8 重复性试验

取同一批(批号: 070401) 样品 6 份,分别精密称定,制备供试品溶液,20 μL 进样测定,按延胡索乙素的含量计算,结果 RSD 为 1.35%。

2.9 加样回收试验

取已知含量的样品(每克含延胡索乙素 0.036 mg) 约 5.0 g 共 6 份,精密称定,置圆底烧瓶中,每份分别加入延胡索乙素对照品适量,按“2.3”项下方法制备,进样测定,记录峰面积,计算延胡索乙素的回收率。结果延胡索乙素的平均回收率为 99.82%, RSD 为 1.00%。

2.10 样品测定

分别精密吸取延胡索乙素对照品溶液及供试

品溶液各 20 μL ,注入高效液相色谱仪,按外标法计算延胡索乙素的含量,分别测定了 3 个批次的样品中延胡索乙素的含量,按每袋(标示重量 4.5 g)计算,结果见表 1。

表 1 样品测定结果 (n=5)

Tab 1 Results of sample determination (n=5)

批号	含量/ $\text{mg}\cdot\text{袋}^{-1}$	RSD/%
070401	0.162 8	1.21
070402	0.168 1	0.99
070403	0.160 3	1.34

3 讨论

雪胆胃肠丸目前是执行国家药品监督管理局颁布的 WS-10312(ZD-0312)-2002 试行标准。在该标准方案中,以阿魏酸为对照品,选择当归作为含量测定项目。由于当归对胃肠道疾病方面目前尚无相关药理作用方面的文献资料,以其为质控指标难以反映该制剂的内在质量。而延胡索在该复方中是一味重要的药材,其主要成分在对胃肠道疾病方面有较显著的疗效。因此,以延胡索乙素为对照品,选择延胡索作为含量测定项目更为合适。

雪胆胃肠丸是含有十多味中药的复方,所以在液相的图谱中干扰杂质成分很多。延胡索乙素为叔胺类生物碱,在氯仿中易溶,在乙醚中微溶,在 pH 7.0 左右的水中几乎不溶。本试验利用这一性质,采用以下样品前处理方法:样品经氨水-甲醇(1:20)提取后,挥干溶剂,残渣用 pH 1.5 的硫酸水溶液溶解,乙醚萃取除去脂溶性杂质,然后调 pH 10.0,用氯仿把延胡索乙素萃取出来,水溶性杂质留在碱水层,氯仿液蒸干,再用甲醇溶解,制备样品溶液。

通过上述样品前处理方法,很好的除去了杂质,使分离度和峰形都得到了改善。

本试验采用二极管阵列检测器对延胡索乙素对照品在 190~800 nm 波长内进行扫描,结果在 225 nm 和 281 nm 波长处有较明显的吸收峰。实验表明,在 225 nm 和 281 nm 波长处杂质吸收峰均很少,干扰较小,其中以 225 nm 吸收波长作为检测波长时,分析方法的灵敏度高,峰形良好。故本实验选定 225 nm 为检测波长。

本法以延胡索乙素为指标成分,测定雪胆胃

肠丸中延胡索的含量,重复性好,无杂质峰干扰,简便易行,准确可靠,因此可作为质量标准的控制指标。

REFERENCES

- [1] Jiangsu New Medical College. Traditional Chinese Medicine Dictionary (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1986: 920.
- [2] LI Y, WANG J H, LAO S X, et al. Tetrahydropalmatine inhibit gastric acid secretion in isolated rat [J]. Chin Pharm Bull (中国药理学通报), 1993, 9(1): 44-47.

收稿日期: 2009-03-14