

# HPLC 测定定心藤中汉防己碱的含量

庞礼雄\*, 曾树贞, 莫其斌  
(广西区人民医院, 南宁 530021)

**[摘要]** 目的: 建立定心藤中汉防己碱的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, VP-ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.3% 三乙醇胺溶液(磷酸调 pH 2.0)(45:55), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 280 nm。结果: 定心藤中的汉防己碱含量测定方法在 0.040 4~0.363 6 μg 进样量与峰面积的线性关系良好( $r=0.999 9$ ), 平均回收率 99.02%, RSD 1.67%。结论: 所建立的方法准确、灵敏、重复性好, 可用于定心藤的质量控制。

**[关键词]** 定心藤; 汉防己碱; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0149-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013170149

## Determination of Tetrandrine in *Mappianthus iodoides* by HPLC

PANG Li-xiong\*, ZENG Shu-zhen, MO Qi-bin

(People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the determination method of tetrandrine content in *Mappianthus iodoides*. **Method:** VP-ODS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used, the mobile phase was acetonitrile-0.3% triethanolamine (with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> to adjust pH 2.0) (45:55), the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 280 nm. **Result:** The linear relation of hyperin was good in the range from 0.040 4 to 0.363 6 μg. The average recovery was 99.02%, RSD was 1.67%. **Conclusion:** The method established is accurate, sensitive and good in reproducibility. It can be applied to the quality control of *Mappianthus iodoides*.

**[Key words]** *Mappianthus iodoides*; tetrandrine; HPLC

定心藤为茶茱萸科定心藤属植物定心藤的根及藤茎,为我国少数民族(傣族、瑶族、苗族、壮族)民间习用药材,别名甜果藤、铜钻、假丁公藤、藤蛇总管、风药、黄藤、黄马胎、黄九牛等,分布于我国福建、湖南、广东、广西、云南、贵州、海南等地,具有祛风除湿、活血调经之功,主治月经不调、痛经、闭经、跌打损伤、腰膝酸痛、风湿痹痛、黄疸型肝炎、心慌心跳<sup>[1]</sup>。定心藤主含黄酮、有机酸、生物碱、萜类、甾醇、鞣质等多种成分<sup>[2]</sup>。目前从定心藤中分离得到蒲公英赛酮、汉防己碱、香草醛、柯因<sup>[3]</sup>、青藤碱、白羊素、槲皮素、没食子酸等化学成分<sup>[2]</sup>。汉防己碱

为定心藤的有效成分之一,为一种双苄基异喹啉生物碱,具有消炎、镇痛、降压、抗纤维化等广泛的药理作用<sup>[4-5]</sup>。本研究建立了汉防己碱的含量测定方法,旨在为定心藤药材的质量控制提供实验依据。

### 1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津制作所),SPD-M10Avp 紫外检测器(日本岛津制作所),AL104 型分析天平(梅特勒-托利多,郑州南北仪器设备有限公司)。

汉防己碱对照品(含量测定用,批号 110711-200507,中国药品生物制品检定所提供),乙腈为色谱纯(天津四友精细化学品有限公司),三乙醇胺(上海试剂一厂)、磷酸(上海试剂一厂)均为分析纯。定心藤药材(由广西汇科药物研究所工程师廖厚知工程师采集或购买并鉴定为定心藤

**[收稿日期]** 20130107(001)

**[通讯作者]** \* 庞礼雄, 主管药师, 从事医院药学研究, Tel: 13978884101, E-mail: pang\_lixiong@163.com

*Mappianthus iodoides* Hand. -Mazz.。采集地点分别为南宁(批号 20100301)、桂林(批号 20100401)、柳州(批号 20100402)、河池(批号 20100701)、百色(批号 20100901);购于恭城(批号 20100601)、玉林(批号 20100801)、梧州(批号 20101101)。

## 2 方法和结果

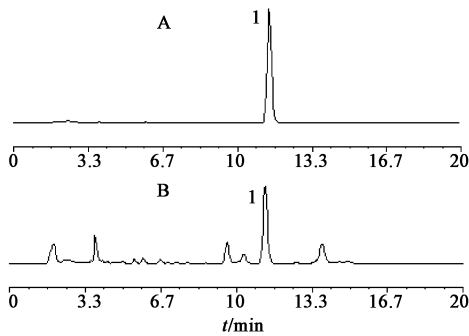
**2.1 色谱条件** 岛津 VP-ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.3% 三乙醇胺溶液(磷酸调节至 pH 2.0)(45:55), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温室温, 检测波长 280 nm, 理论板数按汉防己碱计不低于 3 800, 此条件下汉防己碱与其他成分分离度 >1.5。

### 2.2 溶液的配制

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取汉防己碱对照品适量, 加流动相适量制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液, 即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品粉末(过 3 号筛)1 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入乙醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 60 min, 放冷, 再称定质量, 用乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.3 系统性试验** 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 按确定的色谱条件测定, 在此条件下样品中汉防己碱的理论塔板数为 4 012, 分离度 2.25, 与其他成分分离良好, 见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 汉防己碱

图 1 定心藤样品 HPLC

**2.4 线性关系的考察** 精密称取汉防己碱对照品 10.10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10 mL 至 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得 2.02, 6.06, 10.10, 14.14, 18.18 mg·L<sup>-1</sup>, 按上述色谱条件, 分别进样 20 μL, 测定, 以峰面积积分 Y 对汉防己碱进样量 X (μg) 进行回归

分析, 得回归方程  $Y = 3\ 536\ 174X - 1\ 223$  ( $r = 0.999\ 9$ )。表明汉防己碱进样量在 0.040 4 ~ 0.363 6 μg 线性关系良好。

**2.5 仪器精密度试验** 取汉防己碱对照品溶液(10.10 mg·L<sup>-1</sup>), 按上述色谱条件, 依法操作测定, 重复进样 5 次, 测定色谱峰面积, 计算 RSD 0.13%, 表明仪器精密度良好。

**2.6 样品溶液稳定性试验** 精密吸取同一批样品(批号 20100301)溶液 20 μL, 按 2.2.2 方法制备样品溶液, 在 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 h 进样分析, 测定色谱峰面积, 计算 RSD 1.02%, 表明样品溶液制备后 72 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批号样品 6 份(批号 20100301), 按 2.2.2 方法制备样品溶液, 测定含量进行分析, 结果平均质量分数 0.517 8 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 0.73%, 表明本测定方法重复性良好。

表 1 定心藤中汉防己碱的加样回收率测定

| 取样量 /g  | 样品量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均回收率 /% | RSD /% |
|---------|---------|---------|--------|----------|--------|
| 0.501 6 | 0.259 7 | 0.505 6 | 97.00  | 99.02    | 1.67   |
| 0.502 7 | 0.260 3 | 0.516 9 | 101.22 |          |        |
| 0.501 2 | 0.259 5 | 0.506 7 | 97.51  |          |        |
| 0.501 5 | 0.259 7 | 0.509 7 | 98.62  |          |        |
| 0.500 2 | 0.259 0 | 0.513 8 | 100.51 |          |        |
| 0.502 8 | 0.260 3 | 0.511 9 | 99.25  |          |        |

注: 对照品加入量均为 0.253 5 mg。

**2.8 加样回收率试验** 取已知准确含量(0.517 8 mg·g<sup>-1</sup>)的样品 6 份(批号 20100301), 每份取 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入 0.5 mL 汉防己碱对照品溶(0.507 g·L<sup>-1</sup>), 精密称取汉防己碱对照品 5.07 mg 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 挥去甲醇, 按 2.2.2 方法制备, 分别注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件下测定汉防己碱峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。表明本方法回收率良好。

**2.9 样品的含量测定** 取定心藤 8 批, 按上述方法测定, 表明不同产地及批号的定心藤中汉防己碱的含量在 0.029% ~ 0.068%, 平均含量为 0.047%, 结果见表 2。

## 3 讨论

**3.1 提取方法的比较** 对药材进行了甲醇回流提取、甲醇超声处理、乙醇回流提取等进行比较, 结果

表 2 定心藤中汉防己碱含量测定 (n=8)

| 批号       | 取样量<br>/g | 含量<br>/mg·g <sup>-1</sup> | 含量<br>/% | 平均值<br>含量/% |
|----------|-----------|---------------------------|----------|-------------|
| 20100301 | 1.004     | 0.523 4                   | 0.052    | 0.047       |
| 20100401 | 1.009     | 0.442 4                   | 0.044    |             |
| 20100402 | 1.014     | 0.378 9                   | 0.038    |             |
| 20100601 | 1.043     | 0.590 6                   | 0.059    |             |
| 20100701 | 1.027     | 0.391 0                   | 0.039    |             |
| 20100801 | 1.048     | 0.286 5                   | 0.029    |             |
| 20100901 | 1.019     | 0.684 6                   | 0.068    |             |
| 20101101 | 1.032     | 0.466 6                   | 0.047    |             |

甲醇回流提取及超声处理所得到的图谱杂质峰均较乙醇提取多,选择乙醇为提取溶媒,考察了回流提取、超声处理,结果超声处理提取不完全。因此,选择乙醇回流提取并对回流提取时间(30,60,90 min)进行考察,结果表明加热回流提取 60 min 能有效的将汉防己提取完全,故选择提取时间为 1 h。

**3.2 流动相的选择** 参考汉防己碱相关含量测定文献<sup>[6-9]</sup>,比较了甲醇-水-三乙醇胺系统、乙腈-三乙醇胺系统、甲醇-醋酸-水系统、乙腈-甲醇-醋酸-水系统。结果表明本方法选定的流动相色谱峰形较佳、分离良好,且保留时间适度。

**3.3 开发应用前景** 定心藤具有祛风除湿、活血调经之功效,在我国少数民族间用途广泛,临床上主要用于止咳、平喘、祛痰、发汗、解表、镇痛及抗菌消炎等功效<sup>[10]</sup>,已经有学者在研究定心藤中总黄酮提取与纯化工艺<sup>[11]</sup>,以及挥发油的提取工艺及其 GC-MS 分析<sup>[12]</sup>。而本研究建立了定心藤中汉防己碱的含量测定方法,旨在为定心藤药材的质量控制提供实验依据。高效液相色谱法测定含量方法简便、准确、灵敏且重复性好,是衡量汉防己甲素质量行之有效的方法<sup>[13-14]</sup>。此法为定心藤的开发利用和制剂的含量测定及药代动力学研究打下了基础。

[参考文献]

[1] 蔡晨秋,马瑛,唐丽,等.药用植物定心藤的研究进展

及民族应用概况[J].中央民族大学学报:自然科学版,2011,20(4):71.

[2] 曾立,尹文清.定心藤中酚性成分的研究[J].中华中医药杂志,2011,26(4):838.

[3] 曾立,尹文清.定心藤中化学成分的研究[J].药学服务与研究,2010,10(6):418.

[4] Shen Y C, Chou C J, Chiou W F, et al. Anti-inflammatory effects of the partially purified extract of Radix Stephaniae Tetrandrae; comparative studies of its active principles tetrandrine and fangchinoline on human polymorphonuclear leukocyte functions[J]. Mol Pharma, 2001, 60(5):1083.

[5] Hu M, Dutt J, Zhao T, et al. Cytokine mRNA in BALB/C mouse corneas infected with herpes simplex virus[J]. Eye, 1999, 13:309.

[6] 徐彦贵,胡世兴,卜一珊,等.反向高效液相色谱法测定汉防己甲素含量[J].中国药师,2004,7(3):186.

[7] 张嗣军.粉防己碱的提取和含量测定[J].中国现代药物应用,2010,4(2):4.

[8] 朱琳,翟美华.抗纤胶囊质量标准的研究[J].中国医药科学,2011,22(1):31.

[9] 于伟健,蔡永葆,蒋礼年.高效液相色谱法测定金艾康中汉防己甲素的含量[J].中国现代应用药学杂志,1999,16(4):50.

[10] 吴立军.全天然药物化学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2004:258.

[11] 曾立,尹文清,王安伟,等.正交试验优选定心藤中总黄酮提取与纯化工艺[J].中国药房,2008,19(6):418.

[12] 曾立,向荣,尹文清,等.瑶药定心藤挥发油的提取工艺及其 GC-MS 分析[J].中成药,2012,34(8):1613.

[13] 刘永刚,刘勇,何瑞杰,等.HPLC 测定防己中防己诺林碱和粉防己碱的含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(9):49.

[14] 陈剑锋,王静,袁子民.HPLC 测定豨莶风湿片中粉防己碱含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):93.

[责任编辑 顾雪竹]