

HPLC 测定不同产地土元胡中原阿片碱含量

李松涛¹, 张芳^{2*}, 杨洋³

(1. 山东医药技师学院, 山东 泰安 271016; 2. 山东中医药大学, 济南 250335;
3. 济南市急救中心, 济南 250013)

[摘要] **目的:**建立土元胡中原阿片碱的含量测定方法,并通过对不同产地土元胡中原阿片碱含量的分析,制定其含量限量标准。**方法:**采用 HPLC 进行含量测定。Aglient TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),乙腈-3% 冰醋酸水溶液(含 0.8% 三乙胺)(18:82)为流动相,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 289 nm。**结果:**原阿片碱在 0.052 ~ 0.52 μg 峰面积与进样量线性关系良好,加样回收率平均值为 99.44%,RSD 2.69%。**结论:**建立了土元胡药材中原阿片碱的含量测定方法,方法准确、简便、可行;不同产地或批次的土元胡中原阿片碱含量相差较大,变异范围在 0.065% ~ 0.199%,平均含量 0.124%,建议控制土元胡药材中原阿片碱的含量以不少于 0.09% 为宜。

[关键词] 土元胡; 不同产地; 原阿片碱; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0139-03

[doi] 10.11653/syfy2013140139

Content Determination of Protopine in Corydalis Rhizoma from Different Origins

LI Song-tao¹, ZHANG Fang^{2*}, YANG Yang³

(1. Shandong Medicine Technician College, Taian 271016, China;
2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;
3. Ji'nan Emergency Center, Ji'nan 250013, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new method for determining the content of protopine in Corydalis Rhizome, and set up the limitation standard of protopine through determining the content of the samples from different origins. **Method:** HPLC method was used. The separation was performed on a Aglient TC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with mobile phase of acetonitrile-3% glacial acetic acid solution (contain 0.8% triethylamine) (18:82). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was set at 289 nm. **Result:** The calibration curves showed good linear regression within test ranges of 0.052-0.52 μg; the recovery was 99.44%. **Conclusion:** The method established for determining the content of protopine in Corydalis rhizome was accurate, simple and feasible. The content of protopine of the samples from different origins varied from 0.065% to 0.199% with the average content of 0.124%. It is suggested that the suitable content standard of Corydalis rhizoma should be no less than 0.09%.

[Key words] Corydalis Rhizoma; different origins; protopine; HPLC; content determination

土元胡收载于《山东省中药材标准》(2002 年 版)^[1],为罂粟科植物土元胡的干燥块茎,具有活血

[收稿日期] 20120512(005)

[基金项目] 2012 版山东省中药材标准及中药饮片炮制规范修订

[第一作者] 李松涛,高级讲师,从事中药炮制与质量控制研究, Tel: 0538-8941668, E-mail: yxant@163.com

[通讯作者] *张芳,博士,讲师,从事中药资源与质量控制研究, Tel: 0531-89628081, E-mail: zfang_819@163.com

散瘀、行气止痛之功效,为地方常用药材,主含原阿片碱、L-四氢黄连碱、苏延胡索甲、苏延胡索乙等多种生物碱。原标准中仅见对其性状及薄层色谱鉴别的记载,而无含量测定检查项,查阅以往文献也未发现对不同产地及批次的土元胡中生物碱含量进行分析比较的报道。原阿片碱具有镇痛、解痉、改善微血管循环、抗血小板聚集、扩血管等作用^[2-3],高效液相色谱法是《中国药典》(2010 年版)^[4]规定的中药质量控制的主要手段,也是文献报道^[5-10]的生物碱类成分含量测定的主要方法,因此,本研究拟采用 HPLC 测定不同产地土元胡药材中原阿片碱的含量,旨在为科学、全面的控制土元胡质量提供依据。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(配 G1311A 四元梯度泵、G1329B 自动进样器、G1314B 可变波长紫外检测器和 ChemStation 色谱数据工作站,美国 Agilent 公司)。CP114 型(1/万)分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司)

原阿片碱(批号 110853-200402,购自中国药品生物制品检定所)。甲醇、乙腈为色谱级,三乙胺、磷酸等为分析级,水为重蒸水。

共收集到 9 批不同产地及批次的土元胡药材,经山东中医药大学周凤琴教授鉴定,均为罂粟科植物土元胡 *Corydalis humosa* Migo 的干燥块茎,药材编号及产地见表 1。

表 1 土元胡产地及编号

No.	采收时间	批号	产地
1	2010-05-15	2010051501	泰安徂徕山 1 号
2	2010-05-21	2010052101	烟台昆嵛山
3	2010-05-17	2010051701	泰安泰山
4	2010-05-16	2010051601	泰安下港乡 1 号
5	2010-05-15	2010051502	泰安徂徕山 2 号
6	2010-05-18	2010051801	山东临沂
7	2010-05-18	2010051802	山东菏泽
8	2010-05-16	2010051602	泰安下港乡 2 号
9	2010-05-17	2010051702	泰安麻塔

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-三乙胺醋酸溶液(取三乙胺 8 mL,冰醋酸 30 mL,加水稀释至 1 000 mL)(18:82),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 289 nm,柱温室温,进样量 20 μL。

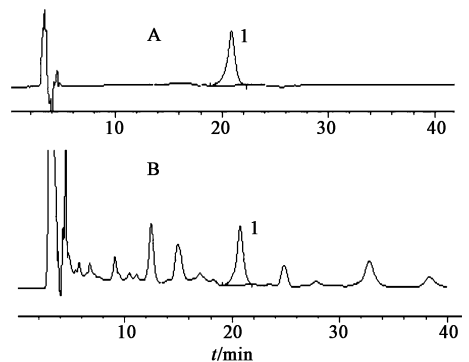
2.2 样品溶液制备 对照品溶液:取原阿片碱对照

品 10.4 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 1% 盐酸溶液 5 mL 使溶解,再加甲醇至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,置 100 mL 量瓶中,再加甲醇至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液:取本品细粉(过 4 号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,以微孔滤膜(0.45 μm)滤过即得供试品溶液。

2.3 检测波长的选择 取对照品溶液,加甲醇稀释,摇匀,照紫外分光光度法(《中国药典》2010 年版一部附录 VA),在 190 ~ 500 nm 扫描,溶液在 289 nm 波长处有最大吸收,且峰形良好,故确定检测波长 289 nm。

2.4 流动相的选择及系统适用性试验 参考药典^[2]夏天无项下测定方法,以乙腈-三乙胺醋酸溶液(取三乙胺 8 mL,冰醋酸 30 mL,加水稀释至 1 000 mL)(18:82)为流动相,照高效液相色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI D)项下要求测定本品中的原阿片碱。结果表明,供试品图谱中与对照品对应位置的色谱峰分离较好,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 原阿片碱

图 1 土元胡药材 HPLC

2.5 线性关系考察 取原阿片碱对照品溶液,设置进样体积分别为 5, 10, 20, 30, 40, 50 μL,按 2.1 项下色谱条件进行测定,以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归,得原阿片碱线性回归方程为 $Y = 614.35X + 73.5$ ($r = 0.9991$),线性范围 0.052 ~ 0.52 μg。

2.6 精密度试验 将对照品溶液按 2.1 项下色谱条件进行测定,连续进样 6 次,吸收峰峰面积分别为 191.3, 188.94, 195.82, 193.51, 190.92, 191.71, RSD 1.23% ($n = 6$),表明精密度良好。

2.7 稳定性实验 取同一供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别于 0, 1, 2, 3, 4, 8 h 进样,吸收峰面积分别为 148.09, 148.64, 142.32, 140.87, 143.54, 143.16, RSD 2.20%,表明样品溶液在 8 h 内基本

稳定。

2.8 重复性试验 精密称取 6 份同一样品,各约 0.5 g,按 2.2 项下制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定,计算含量,结果分别为 0.082 5%, 0.087 0%, 0.085 0%, 0.085 5%, 0.085 3%, 0.088 5%, RSD 2.34%,表明方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量(0.085 6%)的样品 6 份,每份约 0.25 g,分别精密加入 0.020 8 g·L⁻¹的对照品溶液 10 mL,精密加入甲醇 40 mL,称定质量,按 2.2 项下供试品溶液制备方法制备供试品,按 2.1 项下色谱条件进行测定,计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 原阿片碱加样回收率的测定

No.	取样量 /g	样品 含量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.255 6	0.219	0.420	96.6	99.44	2.69
2	0.252 5	0.216	0.422	99.0		
3	0.261 1	0.224	0.436	101.9		
4	0.265 0	0.227	0.432	98.6		
5	0.252 5	0.216	0.431	103.4		
6	0.248 5	0.213	0.415	97.1		

注:加入量均为 0.208 mg。

2.10 样品含量测定 取不同产地样品粉末 0.5 g,精密称定,按 2.2 项下制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定,进样量 20 μL,根据公式 $m_{\text{样}} = m_{\text{标}} \times s_{\text{样}} / s_{\text{标}}$ 计算出不同产地样品中原阿片碱的百分含量。结果见表 3。

表 3 不同产地土元胡中原阿片碱素含量测定($n=3$) %

No.	批号	原阿片碱素	RSD
1	2010051501	0.149	1.99
2	2010052101	0.154	2.11
3	2010051701	0.141	1.65
4	2010051601	0.199	2.03
5	2010051502	0.076	2.22
6	2010051801	0.095	1.02
7	2010051802	0.129	0.86
8	2010051602	0.065	2.11
9	2010051702	0.110	2.62

3 讨论

研究发现,不通过产地或批次的土元胡样品中原阿片碱的含量差异较大,变异范围为 0.065% ~ 0.199%,含量最高者与含量最低者相差近 3 倍,含量的差异可能与药材的产地、采收时间、加工方法的不同有关,结果提示我们,土元胡药材生产过程中,应遵循统一的、标准的操作规范,以保证土元胡药材质量的稳定性和可控性。

9 批样品中原阿片碱平均含量 0.124%,结合各样品的含量及实际情况,建议可控制土元胡药材中原阿片碱的含量以不少于 0.09% 为宜。

[参考文献]

- [1] 山东省中药材标准[S]. 2002 年版. 济南:山东友谊出版社,2002:3.
- [2] 李良国. 原阿片碱对抗血小板聚集作用[J]. 国外医药:植物药分册,1992,7(2):77.
- [3] 余丽梅,黄燮南,孙安盛,等. 原阿片碱对兔胸主动脉的松弛作用[J]. 遵义医学院学报,1999,22(3):5.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:262.
- [5] 刘泓,杨亚莉,范斌. 高效液相色谱法测定延胡索药材中原阿片碱及延胡索乙素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(7):9.
- [6] 张淑运,王焱,何希荣,等. 苦参药材中生物碱的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(6):2.
- [7] 郑建芳,荆云,秦民坚. HPLC 同时测定苦地丁中 6 种生物碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(21):121.
- [8] 张启云,朱占杰,余日跃,等. RP-HPLC 法测定白附片中乌头碱、新乌头碱和次乌头碱[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(12):1.
- [9] 张永鑫,刘晓,杨欣文,等. 黄连 4 种饮片特征图谱研究及生物碱含量测定[J]. 药物分析杂志,2012,32(11):1957.
- [10] 黄毅婷,游勇基. 功劳木药材特征图谱研究和生物碱含量测定[J]. 海峡药学,2012,24(1):68.

[责任编辑 顾雪竹]