

# HPLC 测定雪山金罗汉止痛涂膜剂中延胡索乙素的含量

倪琳\*, 杨锡

(甘肃省食品药品检验所 甘肃省中药品质与安全评价工程技术研究中心, 兰州 730000)

**[摘要]** 目的:建立雪山金罗汉止痛涂膜剂中延胡索乙素的含量测定方法。方法:采用 HPLC 法对制剂中主要成分延胡索乙素进行定量分析。CAPCELL PAK C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 至 6.0)(38:62),检测波长 280 nm,柱温 30 °C,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果:延胡索乙素在 0.010 84~0.130 08 μg 呈良好的线性关系,平均回收率为 97.74%,RSD 1.75% (n=9)。结论:方法准确可靠,专属性强,结果稳定,重复性好,可有效控制制剂质量。

**[关键词]** 雪山金罗汉止痛涂膜剂;延胡索乙素;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(2012)02-0106-03

## Determination of Tetrahydropalmatine in Xueshan Jinluohan Zhitong Balm by RP-HPLC

NI Lin\*, YANG Xi

(Gansu Provincial Institute of Food and Drug Control, Gansu Province Traditional Chinese Medicine Quality and Safety Evaluation Technology Research Center, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an method for determination of tetrahydropalmatine in Xueshan Jinluohan Zhitong Balm. **Method:** The tetrahydropalmatine in Xueshan Jinluohan Zhitong Balm was determined by HPLC. CAPCELL PAK C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm 5 μm) column was used. The mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (adjusted pH to 6.0 with triethylamine) (38:62) with the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was 30 °C and UV detection wavelength was at 280 nm. **Result:** The tetrahydropalmatine were linear at the range of 0.010 84-0.130 08 μg, respectively. The average recovery was 97.74% and RSD was 1.75% (n=9). **Conclusion:** The established method is accurate, reliable and specific. The quality of Xueshan Jinluohan Zhitong Balm can be controlled by the method.

**[Key words]** Xueshan Jinluohan Zhitong Balm; tetrahydropalmatine; HPLC

雪山金罗汉止痛涂膜剂的标准是国家食品药品监督管理局标准国家药品标准 WS<sub>3</sub>-540(Z-079)-2003(Z)-2007,处方由铁棒锤、延胡索、五灵脂、雪莲花、川芎、红景天、秦艽、桃仁、西红花、冰片、麝香 11 味药制成的复方制剂,具有活血,消肿,止痛的功效,用于急性扭挫伤、风湿性关节炎、类风湿性关节炎、痛风、肩周炎、骨质增生所致的肢体关节疼痛肿胀以及神经性头痛等症<sup>[1]</sup>。原标准中含量测定项采用薄层扫描法测定延胡索中延胡索乙素的含量,在实

际试验过程中发现操作繁琐,测定结果误差较大,为了更好的控制产品质量,本文建立了 RP-HPLC 测定雪山金罗汉止痛涂膜剂中延胡索乙素含量的方法。

### 1 材料

**1.1 仪器** Waters 2695 高效液相色谱仪,二极管阵列检测器(美国 Waters 公司)。

**1.2 试剂** 延胡索乙素对照品(批号 110726-200409,购自中国药品生物制品检定所);雪山金罗汉止痛涂膜剂样品(批号 100303,100304,100305)由西藏康达药业有限公司提供,乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取延胡索乙素对

**[收稿日期]** 20110612(002)

**[通讯作者]** \*倪琳,主管药师,本科,从事中药质量分析,Tel: 0931-4968949, E-mail: nilinmanager937@sohu.com

照品 10.13 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(含延胡索乙素  $10.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品约 25 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,缓缓滴加 1% 盐酸溶液约至 80 mL,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,加 1% 盐酸溶液至刻度,摇匀,用少许棉花滤过,精密量取续滤液 25 mL,用浓氨试液调节 pH 为 9~10,用乙醚萃取 6 次,每次 30 mL,合并乙醚提取液,蒸干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.3 阴性对照溶液的制备** 按供试品的处方和制法,制成不含延胡索的阴性样品,按上述供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。

**2.2.4 色谱条件及系统适应性试验** CAPCELL PAK  $C_{18}$  柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 至 6.0)(38:62),检测波长为 280 nm,流速为  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,进样体积对照品 10  $\mu\text{L}$ 、样品 20  $\mu\text{L}$ ,柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ 。理论板数按延胡索乙素计算应不低于 6 000。对照品,供试品以及阴性对照色谱图见图 1。阴性对照无干扰。

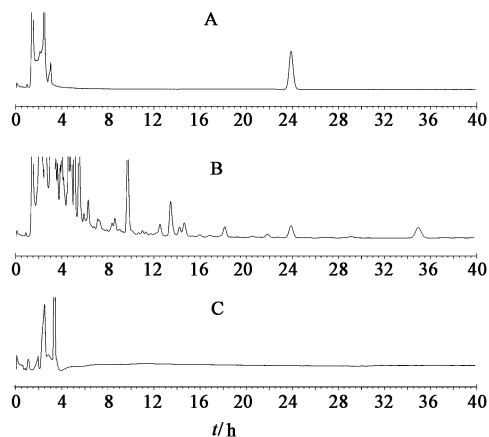


图 1 延胡索乙素对照品(A)、雪山金罗汉止痛涂膜剂(B)及阴性对照(C)液相色谱图

**2.2.5 工作曲线与线性关系** 分别精密吸取延胡索乙素对照品溶液( $10.84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )1,3,5,7,9,12  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,测定峰面积积分值,以峰面积积分值为横坐标( $X$ ),对照品溶液的进样量( $\mu\text{g}$ )为纵坐标( $Y$ ),作图,得到近过原点的一条直线,回归方程  $Y = 9.4367 \times 10^{-7} X + 0.0131$  ( $r = 0.9998$ ),结果表明,延胡索乙素在  $0.01084 \sim 0.13008 \mu\text{g}$  呈良好的线性关系。

**2.2.6 精密度试验** 精密吸取延胡索乙素对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,连续进样 6 次,测定延胡索乙素峰面积,RSD 0.64%。

**2.2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液,每隔 2 h 时间进样 1 次,结果在 12 h 内,供试品溶液中延胡索乙素峰面积稳定,RSD 1.70%。

**2.2.8 重复性试验** 取雪山金罗汉止痛涂膜剂(批号 100303)6 份,每份约 25 g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备,在确定的色谱条件下进行分析,RSD 0.87%。

**2.2.9 加样回收率试验** 取已知延胡索乙素含量的供试品(批号 100303)9 份,每份约 12 g,精密称定,置蒸发皿中,分别精密加入一定量的延胡索乙素对照品溶液( $0.0257 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),挥干甲醇后,再缓缓滴加 1% 盐酸溶液适量,转移至 100 mL 量瓶中,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,加 1% 盐酸溶液至刻度,摇匀,用少许棉花滤过,精密量取续滤液 25 mL,用浓氨试液调节 pH 9~10,用乙醚萃取 6 次,每次 30 mL,合并乙醚提取液,蒸干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得,见表 1。

表 1 雪山金罗汉中延胡索乙素的加样回收率试验( $n=9$ )

No	称样量 /g	原有量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD /%
1	12.0013	0.0794	0.0514	0.1284	95.33		
2	12.0129	0.0795	0.0514	0.1292	96.69		
3	12.0112	0.0795	0.0514	0.1294	97.08		
4	12.0563	0.0798	0.0771	0.1554	98.05		
5	12.0527	0.0798	0.0771	0.1563	99.22	97.74	1.75
6	12.0819	0.0800	0.0771	0.1543	96.37		
7	12.0431	0.0797	0.1028	0.1803	97.86		
8	12.0792	0.0800	0.1028	0.1840	101.17		
9	12.0873	0.0800	0.1028	0.1806	97.86		

**2.2.10 样品的测定** 取 3 批雪山金罗汉止痛涂膜剂按供试品溶液的制备方法制成供试液,分别进样,测得峰面积值,计算雪山金罗汉止痛涂膜剂中延胡索乙素的含量,见表 2。

### 3 讨论

**3.1 供试品溶液提取方法的确定** 由于雪山金罗汉止痛涂膜剂是黏稠的液体,用移液管精密量取时,样品挂壁,所以样品采用精密称定。曾用甲醇超声提取,再取续滤液过中性氧化铝柱,收集流出液及洗脱液,蒸干,用甲醇定容,试验中发现溶液用微孔

# 三七活血丸三七皂苷类成分测定及稳定性分析

李明梅\*

(盐城卫生职业技术学院药学系, 江苏 盐城 224005)

**[摘要]** 目的:建立三七活血丸中三七皂苷类成分的含量测定方法,并初步考察三七活血丸溶液的稳定性。方法:成分测定使用高效液相色谱法,以乙腈-0.05%磷酸(19:81)为流动相,于 203 nm 处检测三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 R<sub>G1</sub>;再以乙腈-水(33:67)为流动相,于 203 nm 处检测人参皂苷 R<sub>B1</sub>。结果:三七皂苷 R<sub>1</sub> 进样量在 0.24 ~ 3.6 μg 呈线性关系( $r = 0.9997$ );人参皂苷 R<sub>G1</sub> 进样量在 1.2 ~ 18 μg( $r = 0.9994$ )呈线性关系;人参皂苷 Re 进样量在 0.08 ~ 1.2 μg( $r = 0.9997$ )呈线性关系;人参皂苷 R<sub>B1</sub> 进样量在 0.25 ~ 3.72 μg( $r = 0.9998$ )呈线性关系。三七活血丸溶液于室温下放置 8 h 三七皂苷类成分的含量无明显变化。结论:本法简便,快速,准确,重复性好,可作为三七活血丸的质量控制标准;三七活血丸中三七皂苷类成分的稳定性良好。

**[关键词]** 三七活血丸;三七;成分分析

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0108-03

三七活血丸由三七、骨碎补、红花、五灵脂、续断、大黄、苏木、木香、蒲黄、没药、赤芍、地龙、当归等药物组成。具有通络散瘀的功效,适用于跌打损伤,骨折初期肿胀严重者。为了较全面评价三七活血丸

的质量,我们制定三七皂苷类成分的质量控制方法<sup>[1]</sup>。

三七中有三七皂苷(Sanqi saponins, SS),如人参皂苷 R<sub>G1</sub>, R<sub>B1</sub>, Re 等成分。现有三七及其相关制剂大多仅对三七成分中的 1 ~ 2 个成分进行定量,《中国药典》仅采用 TLC 法测定人参皂苷 R<sub>G1</sub> 和人参皂苷 R<sub>B1</sub> 2 个成分。本研究采用 HPLC,选择人参皂苷 R<sub>B1</sub>、人参皂苷 R<sub>G1</sub>、人参皂苷 Re,以及三七独

**[收稿日期]** 2011-03-12

**[通讯作者]** \*李明梅,本科,副教授,从事化学研究, Tel: 15950206998, E-mail: lmmych@163.com

表 2 3 批样品中延胡索乙素测定 mg·g<sup>-1</sup>

批号	延胡索乙素		平均值
100303	0.006 73	0.006 52	0.006 62
100304	0.007 32	0.007 17	0.007 24
100305	0.007 15	0.007 04	0.007 10

滤膜滤过后仍混浊。改用乙醚萃取的方法,溶液较澄清。由于样品含乙基纤维素、丙酮、氮酮等赋形剂,所以样品在 1% 的盐酸超声提取后过滤较困难,采用少许棉花过滤,再从得到的续滤液中精密量取一定量的续滤液,用乙醚进行萃取,蒸干,最后用甲醇定容,微孔滤膜滤过,溶液澄清,并且测定的含量较准确。故确定用 1% 的盐酸超声提取,用少许棉花过滤,精密量取一定量的续滤液,用浓氨试液调节 pH,乙醚进行萃取,蒸干,甲醇定容。

**3.2 流动相的选择** 取同一批号样品按供试品溶液的制备的方法用 2 种不同的流动相测定,结果用甲醇-0.02%磷酸二氢钾和 0.96%磷酸氢二钾(用磷酸调 pH 至 6.5)(55:45)<sup>[2]</sup>测得 0.006 30 mg·

g<sup>-1</sup>;用乙腈-0.1%磷酸溶液(用三乙胺调 pH 至 6.0)(35:65)<sup>[3]</sup>测得 0.673 mg/100 g。经比较,确定用乙腈-0.1%磷酸溶液(用三乙胺调 pH 至 6.0)(38:62)作为流动相。

## [参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局标准国家药品标准 WS3-540(Z-079)-2003(Z)-2007[S].
- [2] 中国药典.一部[S].2005:94.
- [3] 中国药典.一部[S].2010:525.
- [4] 杨书良,田凤,孙婷. HPLC 测定延胡索止痛滴丸中延胡索乙素的含量[J]. 中草药,2006,37(12):1810.
- [5] 李惠芬,刘芳,朱丽丽. RP-HPLC 法测定延胡索及其制剂元胡止痛片中延胡索乙素的含量[J]. 中草药,2006,37(12):1811.
- [6] 潘云雪,诸葛陇,张芳芳. RP-HPLC 测定骨健口服液中延胡索乙素的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,26(5):.

[责任编辑 蔡仲德]