

# HPLC 测定消核灵胶囊中延胡索乙素的含量

周军<sup>1\*</sup>, 尚强<sup>2</sup>

(1. 江苏省连云港市第一人民医院, 江苏 连云港 222000; 2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222000)

[摘要] 目的: 建立以高效液相色谱法测定消核灵胶囊延胡索乙素的含量的方法。方法: 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-2% 冰醋酸溶液(用三乙胺调 pH 5.0) (25:75); 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温为 30 ℃。结果: 延胡索乙素的检测浓度在 44.68 ~357.44 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.9999$ ,  $n=5$ ); 平均回收率为 101.10%, RSD 2.42% ( $n=5$ )。结论: 本法简便、快速、准确, 可用于消核灵胶囊的质量控制。

[关键词] 消核灵胶囊; 延胡索乙素; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)18-0063-03

## Determination of Tetrahydropalmatine in Xiaoheling Capsule by HPLC

ZHOU Jun<sup>1\*</sup>, SHANG Qiang<sup>2</sup>

(1. The First People's Hospital of Lianyungang City Lianyungang 222000, China;

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd, Lianyungang 222000, China)

**[Abstract] Objective:** To establish an HPLC method for the determination of tetrahydropalmatine in Xiaoheling capsule. **Method:** The HPLC separation was performed on C<sub>18</sub> column (4.6 mm ×150 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile -2% acetic acid solution (adjusted pH to 5.0 using triethylamine) (25:75); The detective wavelength was set at 280 nm with a flow rate of 1 mL·min<sup>-1</sup> and the column temperature was set at 30 ℃. **Result:** Corydalis was linear in the range of 44.68-357.44 mg·L<sup>-1</sup> with coefficient 0.9999. Average recovery was 101.10% with RSD 2.42% ( $n=5$ ). **Conclusion:** The method was simple, rapid and accurate, and applicable for the quality control of Xiaoheling capsule.

**[Key words]** Xiaoheling capsule; tetrahydropalmatine; HPLC; content determination

消核灵胶囊为我院研制的纯中药制剂(批准文号:苏药制字 Z04000076), 用于治疗乳腺增生。处方中含有延胡索, 夏枯草, 穿山甲, 黄芪, 斑蝥等 8 味中药, 具有理气活血、散结止痛等作用<sup>[1]</sup>。制剂中成分复杂, 延胡索乙素为其中的主要药效成分之一, 且其检测方法较为成熟, 故我们采用高效液相色谱法测定该制剂中延胡索乙素的含量, 以期更好地对该制剂进行质量控制, 保证用药安全。

### 1 材料

**1.1 仪器** 高效液相色谱仪(Waters 公司); C<sub>18</sub> 色

谱柱(日本岛津公司); pH5-3B 酸度计(上海雷磁仪器厂)。

**1.2 试药** 延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0726-200208); 乙腈为色谱纯; 其他试剂为分析纯; 消核灵胶囊(连云港市第一人民医院, 批号: 090608, 090614, 090620, 090802, 090808, 090814, 090821, 091203, 091208, 091215)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-2% 冰乙酸溶液(用三乙胺调 pH 5.0) (25:75); 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL<sup>[2]</sup>。

**2.2 对照品溶液的制备** 取延胡索乙素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.2 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 即得。

[收稿日期] 20100609(008)

[第一作者] 周军, Tel: 0518-85605267, E-mail: 1318985352@

qq.com

**2.3 供试品溶液的制备** 取消核灵胶囊内容物 5 g 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加 70% 乙醇 50 mL, 浸泡 30 min, 加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 放冷, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至无醇味, 加水定容至 20 mL, 上于中性氧化铝柱(200 目) 吸附, 用 300 mL 70% 乙醇洗脱(流速约 5 mL·min<sup>-1</sup>), 收集洗脱液。水浴挥干, 残渣用甲醇溶解、定容至 25 mL 量瓶中, 作为供试品溶液。

**2.4 阴性供试品溶液的制备** 按处方组成量, 取除延胡索外的其余药材和辅料按工艺要求制成缺延胡索的样品, 同供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。

**2.5 专属性试验** 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 结果表明, 在上述条件下, 延胡索乙素与样品中其他组分色谱峰达到了基线分离, 阴性对照无干扰, 结果见图 1。

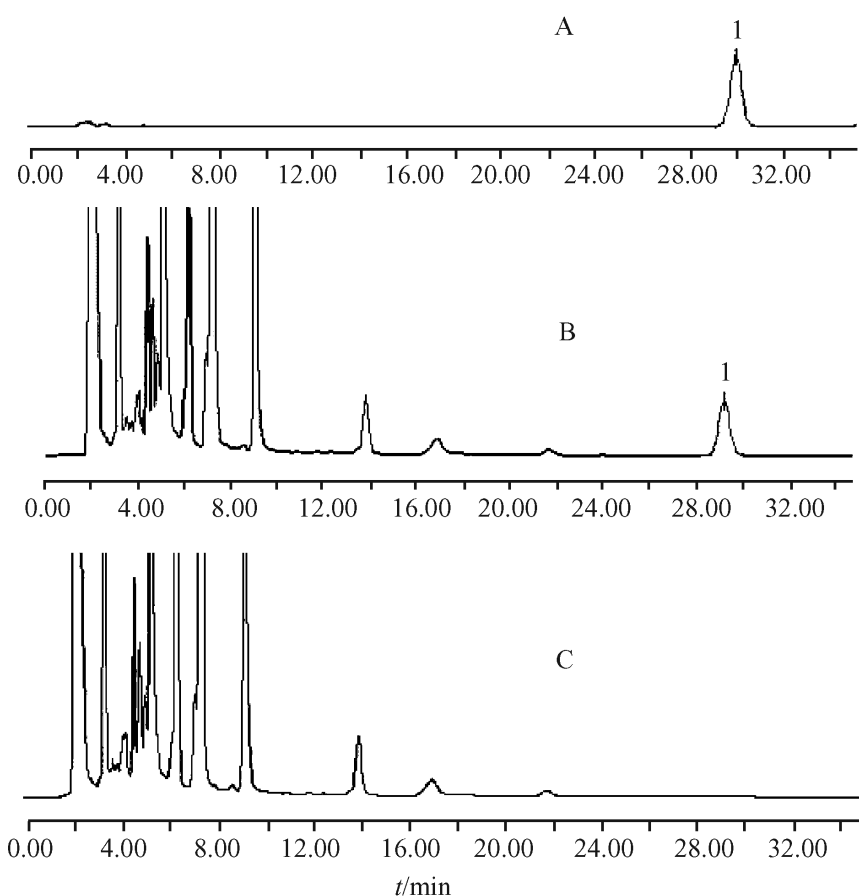


图 1 消核灵胶囊 HPLC

A. 延胡索乙素对照品; B. 消核灵胶囊样品;

C. 阴性样品; 1. 延胡索乙素

**2.6 线性关系的考察** 精密称取延胡索乙素对照品 44.68 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 得质量浓度为 446.8 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品储备液。分别精密吸取上述溶液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 分别精密加入甲醇定容, 摇匀, 分别进样 10 μL 测定。以进样浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。结果表

明延胡索乙素在 44.68 ~357.44 mg·L<sup>-1</sup> 时, 检测结果呈良好线性关系, 回归方程为  $Y = 8.3147X - 2.28$ , ( $r = 0.9999$ ,  $n = 5$ )。

**2.7 精密度试验** 精密吸取对照品 (44.68 mg·L<sup>-1</sup>) 溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测得峰面积积分值, 计算 RSD 0.14%, 表明精密度良好。

**2.8 稳定性试验** 取本品(批号 090614) 内容物, 按 2.3 项下的方法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 进样, 测得峰面积积分值, 计算 RSD 0.12%。结果表明供试品溶液中延胡索乙素峰在 12 h 内稳定, 消核灵胶囊(批号 090614) 中延胡索乙素为 1.12 mg·g<sup>-1</sup>。

**2.9 加样回收试验** 取消核灵胶囊(批号 090614, 含量 1.12 mg·g<sup>-1</sup>) 内容物 6 份, 每份约 2.5 g, 分别精密加入延胡索乙素对照品储备液(质量浓度为 446.8 g·L<sup>-1</sup>) 标准品储备液 5.0 mL, 按 2.3 项下的供试品溶液制备方法制备, 进样测定, 结果见下表 1。

表 1 延胡索乙素加样回收率试验

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
2.495 8	2.795 3	2.234	5.135	104.52	101.10	2.42
2.512 3	2.813 8	2.234	5.082	102.15		
2.521 0	2.823 5	2.234	5.029	99.78		
2.498 0	2.797 8	2.234	5.016	99.19		
2.489 7	2.788 5	2.234	5.005	98.70		
2.505 9	2.806 6	2.234	5.111	103.45		

**2.10 样品含量测定** 取 10 批消核灵胶囊制剂样品, 每批取 3 份平行样, 按照上法制备供试品溶液, 测定、计算内容物延胡索乙素含量, 结果见表 2。

表 2 消核灵胶囊中延胡索乙素测定

No.	延胡索乙素 /mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%
090608	1.09	1.07
090614	1.12	0.76
090620	1.03	1.25
090802	1.19	0.89
090808	1.10	1.21
090814	1.15	0.96
090821	1.03	1.54
091203	1.08	1.32
091208	1.13	1.19
091215	1.04	1.24

(下转第 67 页)

表 1 盐酸小檗碱加样回收率试验

取样量 /g	样品中含 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD/%
0.100 1	0.153 9	0.149 2	0.299 8	97.79		
0.102 0	0.156 8	0.149 2	0.302 3	97.52		
0.100 6	0.154 6	0.149 2	0.298 1	96.18	97.71	1.0
0.102 4	0.157 4	0.149 2	0.302 8	97.45		
0.104 5	0.160 6	0.149 2	0.307 1	98.19		
0.101 2	0.155 5	0.149 2	0.303 4	99.13		

(每 100 mL 中含庚烷磺酸钠 0.1 g)、乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH 3) (70 30)<sup>[2]</sup>、乙腈-0.033 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾(60 40)<sup>[3]</sup>, 结果盐酸小檗碱的峰均能达到基线分离, 最后以乙腈-0.1% 磷酸(1 2) (每 100 mL 中含庚烷磺酸钠 0.1 g) 为流动相, 分离效果较好。

以甲醇、盐酸-甲醇(1 100)、盐酸-乙醇(1

100)、盐酸-75% 甲醇(1 100)、盐酸-60% 甲醇(1 100) 为溶剂, 均采用加热回流 30 min 的提取方法, 结果表明, 采用盐酸-甲醇(1 100) 为溶剂, 提取较完全。

以盐酸-甲醇(1 100) 为溶剂, 分别加热回流 20, 30, 40 min 及超声处理 30 min, 测定同批样品(批号 6070451), 结果表明, 采用盐酸-甲醇(1 100) 为溶剂, 加热回流 30 min 为宜, 提取较完全。

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 214
- [2] 马尔丽, 季申. HPLC 测定消 A 洗液中盐酸小檗碱的含量[J]. 中成药, 2010, 23(7): 493.
- [3] 林瑞群, 龙斌. 连蒲双清片中盐酸小檗碱的含量测定[J]. 今日药学, 2009, 19(6): 52.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 64 页)

### 3 讨论

通过系统的方法学研究, 我们建立了高效液相色谱测定消核灵胶囊中延胡索乙素含量的方法。采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-2% 冰乙酸溶液(用三乙胺调 pH 5.0) (25 75); 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。定量方法采用外标法。在上述条件下, 延胡索乙素与样品中其他组分色谱峰达到了基线分离, 阴性对照无干扰。

对 10 批次的样品延胡索乙素含量测定结果表明, 该检测方法能够简便、快速、准确的测定制剂中

的延胡索乙素含量。

本方法的建立, 提高了原制剂的质量标准, 加强了制剂的质量控制, 为患者的安全用药提供了更大的保障。

### [参考文献]

- [1] 李永溟, 尹可华, 戴翔铃, 等. HPLC 测定消核灵胶囊中熊果酸的含量[J]. 重庆医学, 2002, 31(11): 1145.
- [2] 方东军, 赵润琴, 张鹏, 等. HPLC 法测定安胃片中延胡索乙素的含量[J]. 中医药学报, 2004, 32(5): 36.

[责任编辑 顾雪竹]