

# HPLC 测定防己中防己诺林碱和粉防己碱的含量

刘永刚, 刘勇, 何瑞杰, 赵保胜, 韩静, 马群\*  
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立防己药材中粉防己碱和防己诺林碱的含量测定方法。方法: 色谱条件 Agilent SB C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-乙腈-水-三乙胺 (55 25 20 0.05), 检测波长为 282 nm。结果: 粉防己碱和防己诺林碱线性范围分别为 0.386 ~ 3.86 μg 和 0.366 ~ 3.66 μg ( $r = 0.9999$ )。粉防己碱和防己诺林碱总含量回收率为 100.1%, RSD 为 1.79%。结论: 本方法可为防己中防己诺林碱和粉防己碱的含量测定方法提供依据。

[关键词] 防己; 粉防己碱; 防己诺林碱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0049-03

## Determination of Tetrandrine and Fangchinoline in *Stephania tetrandra* S. Moore by HPLC

LIU Yong-gang, LIU Yong, HE Rui-jie, ZHAO Bao-sheng, HAN Jing, MA Qun\*  
(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for determination of tetrandrine and fangchinoline from *Stephania tetrandra* S. Moore. **Method:** The condition for HPLC was C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm, Agilent), the mobile phase was a mixture of methanol-acetonitrile-water-triethylamine (55 25 20 0.05), the detection wavelength was 282 nm. **Result:** The standard curve was linear in the range of 0.386-3.86 μg and 0.366-3.66 μg and the correlation coefficient was 0.9999 and 0.9999 respectively. The average recovery of total tetrandrine and fangchinoline was 100.1%, RSD 1.79%. **Conclusion:** The method can be used for the quality control of *Stephania tetrandra* S. Moore.

**[Key words]** *Stephania tetrandra* S. Moore; tetrandrine; fangchinoline; HPLC

防己为防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore. 的干燥根, 具有利水消肿、祛风止痛之功效<sup>[1]</sup>。2005 年版《中国药典》中防己药材的粉防己碱和防己诺林碱含量采用 HPLC 法测定。但笔者在用药典所载方法检测防己含量时, 发现 5 个不同来源的防己中粉防己碱和防己诺林碱的总含量偏低。因此, 本课题组对防己药材中粉防己碱和防己诺林碱的总含量测定方法进行了系统研究, 为完善防己的质量标准提供参考。

### 1 材料

岛津 20A 高效液相色谱仪, 包括四元梯度泵、自动进样器、二极管阵列检测器 (日本岛津有限公司), 超声波提取器。粉防己碱批号 110711-200507) 和防己诺林碱 (批号 110793-200605) 购自中国药品生物制品检定所, 防己药材 (采自浙江临海、临安和安徽), 经北京中医药大学王文全教授鉴定为防己为防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore. 的干燥根。乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 流动相用水为高纯水。

### 2 方法与结果

**2.1 提取溶剂优选** 本试验选择 0.5% 盐酸、1% 盐酸、2% 盐酸、3% 盐酸、0.5% 三乙胺、1% 三乙胺、2% 三乙胺、3% 三乙胺的甲醇溶液和甲醇作为提取

[收稿日期] 2009-12-21

[基金项目] 北京市重点实验室 (JD100260652)

[通讯作者] \* 马群, Tel: 010-84738658, E-mail: maqun99@163.

com

溶剂, 进行超声提取, 分别以粉防己碱和防己诺林碱的峰面积为指标, 结果见图 1。

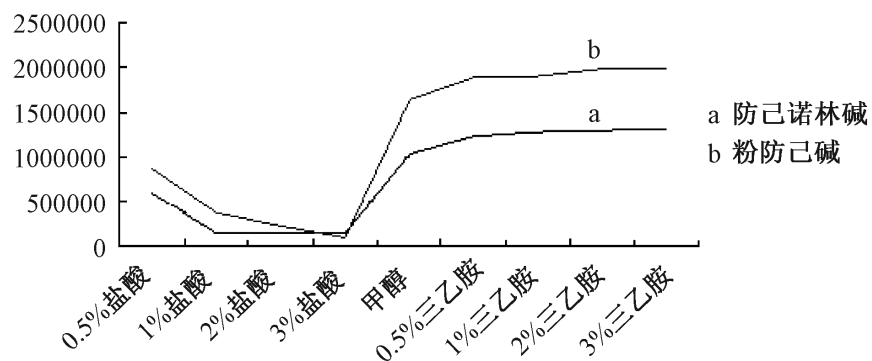


图 1 不同提取溶剂粉防己碱和防己诺林碱提取含量变化图

**2.2 提取方法优选** 本试验以浙江临海、临安、安徽、药店 1 和药店 2 5 个产地药材为研究对象, 采用超声提取和药典提取方法 2 种方法进行比较, 结果见表 1。

表 1 不同提取方法防己诺林碱和粉防己碱 %

产地	超声	热回流(药典法)
临海	1.73	1.72
临安	1.78	1.78
安徽	1.93	1.93
药店 1	1.67	1.65
药店 2	1.62	1.62

在优选了提取溶剂后, 并对提取方法进行了选择, 进行了下列系统性试验。

**2.3 色谱条件** 色谱柱 Agilent XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱; 乙

腈-甲醇-水-三乙胺(25 55 20 0.05) 为流动相; 检测波长 282 nm; 柱温 30 ; 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; 理论板数按粉防己碱和防己诺林碱峰计算应不低于 2 000。

**2.4 溶液的制备**

**2.4.1 对照品溶液** 精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的粉防己碱和防己诺林碱对照品适量, 加甲醇制成 0.193 g·L<sup>-1</sup> 和 0.183 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。

**2.4.2 供试品溶液** 取本品粉末(过三号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 精密加入 1% 三乙胺甲醇溶液 25 mL, 称定质量, 超声 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 1% 三乙胺甲醇溶液补足减失的质量, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 置 10 mL 量瓶, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.5 线性范围的考察** 精密称取粉防己碱和防己诺林碱对照品适量, 加甲醇制成 0.193 g·L<sup>-1</sup>, 0.183 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 分别稀释成体积为 0.1, 0.2, 0.4, 0.5 倍。各取 20 μL 分别注入液相色谱仪, 测定。以进样量为横坐标, 以峰面积值为纵坐标作图, 得回归方程分别为  $Y=7.48 \times 10^5 X - 3.77 \times 10^3$  和  $Y=2.51 \times 10^6 X + 2.06 \times 10^4$ , 结果表明粉防己碱和防己诺林碱在 0.386 ~3.86 μg 和 0.366 ~3.66 μg 之间, 进样量与峰面积值呈良好的线性关系。

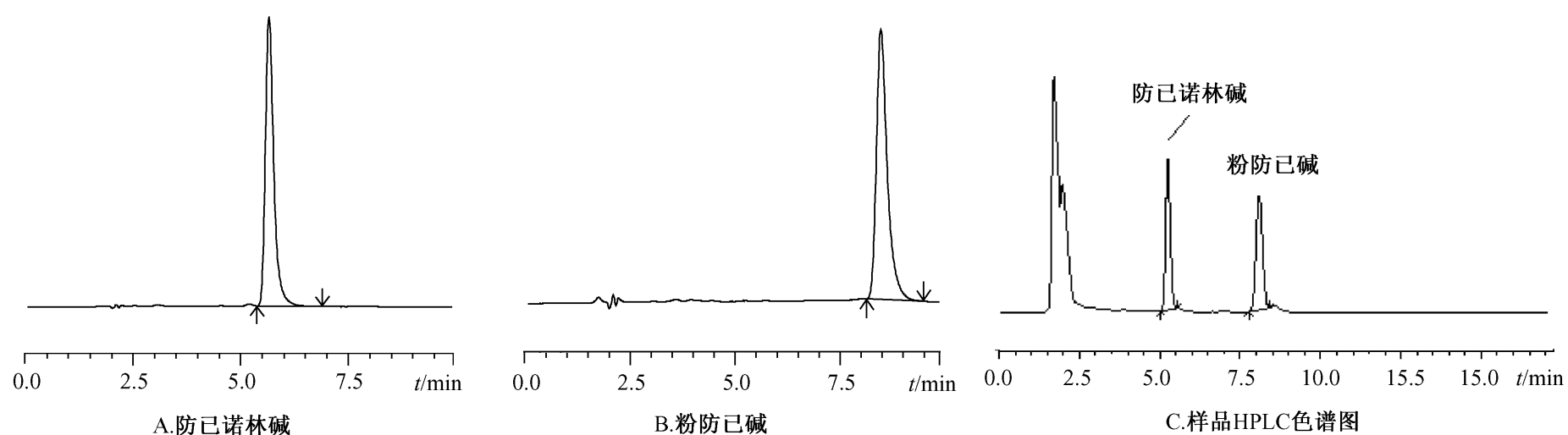


图 2 防己与对照品的 HPLC 色谱图

**2.6 精密度试验** 取安徽的供试品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 计算相对标准偏差, 粉防己碱和防己诺林碱的 RSD 分别为 0.64% 和 0.72%。

**2.7 重复性试验** 取安徽的防己 6 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 按 2.4.2 项下的方法制备供试品溶液, 测定防己中粉防己碱和防己诺林碱总含量。药材中粉防己碱和防己诺林碱的平均总含量为 1.93%, RSD 为 0.85%。

**2.8 稳定性试验** 分别取放置 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 的

供试品溶液, 测定防己中粉防己碱和防己诺林碱的总含量, 以考察其稳定性。RSD 为 1.84%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

**2.9 回收率试验** 精密称取对照品适量, 加入到已知粉防己碱和防己诺林碱含量的防己(药材中粉防己碱和防己诺林碱的总含量为 1.93%) 中, 按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液, 测定防己中粉防己碱和防己诺林碱的总含量, 计算回收率, 结果见表 2。

表 2 粉防己碱和防己诺林碱加样回收率实验

No.	取样量 /g	样品中粉防己碱和 防己诺林碱含量 /mg	对照品加入量 /mg	实测值 /mg	回收率 /%	RSD/%	聊%
1	0.253 6	0.489 4	0.482	0.971 8	100.94		
2	0.259 0	0.499 9	0.483	0.973 2	98.61		
3	0.255 6	0.493 3	0.488	0.975 4	100.44		
4	0.253 2	0.488 7	0.484	0.970 1	100.30	1.79	100.1
5	0.258 9	0.499 7	0.481	0.968 3	97.63		
6	0.247 8	0.478 3	0.484	0.971 8	102.91		

**2.10 含量测定** 称取 3 个产地样品 3 份,精密称定,依法制备样品溶液,分别吸取 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算粉防己碱和防己诺林碱的总含量,结果见表 3。

表 3 不同产地防己中含粉防己碱和防己诺林碱总量 %

批次	临海	临安	药店 1	安徽	药店 2
含量(2% 盐酸甲醇)	1.73	1.78	1.67	1.93	1.62
含量(2% 三乙胺甲醇)	0.64	0.63	0.52	0.69	0.54

### 3 讨论

在选择提取溶剂的过程中发现,防己中生物碱在酸性甲醇中提取率低于碱性甲醇,原因可能为,防己中生物碱发现主要含有双苄基异喹啉类生物碱,该类生物碱碱性较强,容易结合氢离子成盐,不易溶于甲醇,致使提取率低。

在流动相的选择上,本试验所采用的流动相条件与药典所提供的条件相比较更为简单,容易配制。

在本文中,考察了 Agilent extend C<sub>18</sub> 色谱柱和 Agilent XDB C<sub>18</sub> 的色谱柱,结果发现 Agilent XDB C<sub>18</sub> 分离效果更好。

在提取方法的选择上,本试验比较了药典方法和超声方法,结果发现超声方法和药典方法所得结果相一致,所以可建议采用超声方法。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 109.
- [2] 饶毅, 黎莉, 刘隆洪, 等. HPLC 法同时测定防己药材中防己诺林碱和粉防己碱[J]. 中草药, 2006, 37(4): 612.
- [3] 傅黎春, 李桃英, 刘映. HPLC 法测定风痛安胶囊中粉防己碱和防己诺林碱的含量[J]. 中国药事, 2004, 18(6): 371.

[责任编辑 顾雪竹]