

# 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

刘 泓<sup>1</sup>, 杨亚莉<sup>2</sup>, 范 斌<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院基础理论研究所, 北京 100700; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

**[摘要]** 目的: 在同一色谱条件下同时测定延胡索药材中原阿片碱及延胡索乙素的含量。方法: 色谱柱为迪马公司钻石牌 C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.6% 冰乙酸水溶液(含 0.06% 三乙胺)-乙腈(81:19); 检测波长: 280 nm; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 两种成分可以得到很好的分离, 延胡索乙素在 0.2~1.0 μg 间呈线性关系( $r = 0.9995$ )。原阿片碱在 0.2~1.0 μg 间呈线性关( $r = 0.99997$ )。结论: 该方法重现性好, 灵敏度高, 结果准确可靠。为进一步提高延胡索药材的质量标准提供了科学依据。

**[关键词]** 延胡索; 原阿片碱; 延胡索乙素; 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(2007)07-0009-02

延胡索具有活血、利气、止痛的功效, 其主要活性成分是生物碱, 到目前为止已从延胡索中分得生物碱近 20 个, 其类型分属原小檗碱型、原阿片碱型、阿朴菲型、苯并菲啶型等 4 种异喹啉型生物碱, 其中多数属原小檗碱型, 少数为阿朴菲型与原阿片碱型, 只有一个为苯并菲啶型<sup>[1,2]</sup>。

本实验在同一色谱条件下同时测定延胡索药材中原阿片碱及延胡索乙素的含量。方法学考察结果显示该方法准确、可靠。为进一步提高延胡索药材的质量标准提供了科学依据。

## 1 实验仪器及试剂

仪器为 Agilent1100 高效液相色谱仪, 包括: 四元泵, 在线脱气机, 柱温箱, DAD 检测器, 化学工作站(chimstation system)。

乙腈、甲醇为 GR, 其它试剂均为 AR, 对照品延胡索乙素、原阿片碱购自中国药品生物制品检定所。

延胡索药材为浙江商品药材, 经鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液制备** 精密称取对照品延胡索乙素与原阿片碱各 4 mg 分别置 100 mL 容量瓶中, 加氯仿溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。(每 mL 含延胡索

乙素与原阿片各 0.04 mg)。

**2.2 供试品溶液制备** 取本品粉末(过 4 号筛)约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞三角瓶中, 加 1 mL 氨水浸润, 加入乙醚 20 mL, 冷浸 24 h, 滤过, 挥干乙醚, 残渣加甲醇溶解定容于 5 mL 容量瓶中, 得供试品溶液。

**2.3 色谱条件** 色谱柱为迪马公司 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.6% 冰乙酸水溶液(含 0.06% 三乙胺)-乙腈(81:19); 检测波长 280 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 5 μL。见图 1 2 3。

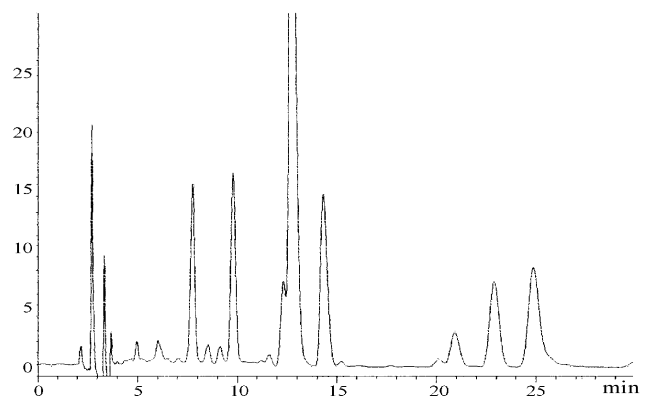


图 1 延胡索药材延胡索乙素与原阿片碱的液相色谱图

**2.4 线性关系考察** 精密吸取延胡索乙素对照品溶液(0.04 mg/mL) 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积  $Y$  为纵坐标, 以进样量  $X$  (μg) 为横坐标, 进行回归分析, 得回归方程  $Y =$

[收稿日期] 2006-09-28

[通讯作者] \* 范斌, Tel: (010) 64014411-2503

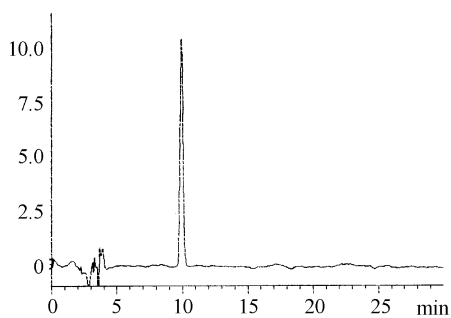


图 2 延胡索乙素液相色谱图

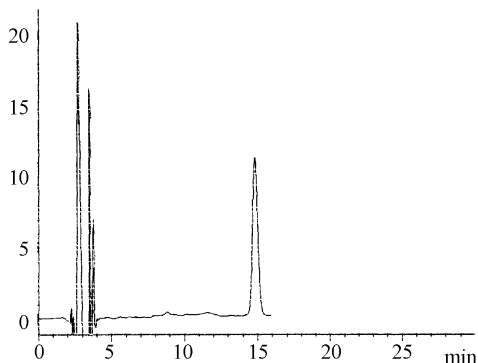


图 3 原阿片碱液相色谱图

$517.6X + 256.06$   $r = 0.9995$ , 表明延胡索乙素在  $0.2 \sim 1.0 \mu\text{g}$  间呈线性关系。

精密吸取原阿片碱对照品溶液 ( $0.04 \text{ mg/mL}$ )  $5, 10, 15, 20, 25 \mu\text{L}$ , 按色谱条件测定峰面积, 以峰面积  $Y$  为纵坐标, 以进样量  $X (\mu\text{g})$  为横坐标, 进行回归分析, 得回归方程  $Y = 897.74X + 0.33$   $r = 0.99997$ , 表明原阿片碱在  $0.2 \sim 1.0 \mu\text{g}$  间呈线性关系。

**2.5 重复性试验** 按供试品制备项下方法操作, 取同一样品同时制备 5 份进行测定, 计算延胡索乙素及原阿片碱的含量及 RSD, 结果延胡索乙素 RSD 为 4.4%, 原阿片碱 RSD 为 4.6%。

**2.6 精密度实验** 精密吸取同一样品  $5 \mu\text{L}$  连续进样 5 次, 测定峰面积值, 结果延胡索乙素 RSD 为 0.7%, 原阿片 RSD 为 1.1%。

**2.7 回收率试验** 取延胡索乙素对照品添加入延胡索药材中, 按供试品溶液制备方法制备, 测定含量, 计算回收率, 结果见表 1。

取原阿片碱对照品添加入延胡索药材中, 按供试品溶液制备方法制备, 测定含量, 计算回收率, 结果见表 2。

**2.8 样品测定** 分别精密吸取胡索乙素及原阿片碱对照品溶液与供试品溶液  $5 \mu\text{L}$ , 依法测定 3 批样品结果见表 3。

表 1 延胡索乙素回收率试验结果

加入量 (mg)	测得总量 (mg)	药材总量 (mg)	回收率 %
0.5	0.836 4	0.353 0	96.68
0.5	0.832 5	0.356 3	95.24
0.5	0.846 0	0.354 0	98.40
0.5	0.846 0	0.357 3	97.74
0.5	0.842 1	0.349 1	98.60
平均回收率 %		97.3	
RSD %		1.3	

表 2 原阿片碱回收率试验结果

加入量 (mg)	测得总量 (mg)	药材总量 (mg)	回收率 %
0.15	0.515 0	0.366 0	99.3
0.15	0.520 0	0.367 2	101.9
0.15	0.524 0	0.367 0	104.6
0.15	0.512 0	0.365 0	98.0
0.5	0.516 0	0.368 1	98.6
平均回收率 %		100.5	
RSD %		2.7	

表 3 延胡索药材中胡索乙素及原阿片碱含量测定结果 ( $n = 3$ )

样品	乙素含量 (mg/g)	原阿片碱含量 (mg/g)
浙江	$0.637 \pm 0.01$	$0.2953 \pm 0.009$
浙江	$0.641 \pm 0.01$	$0.2950 \pm 0.008$
浙江	$0.612 \pm 0.01$	$0.2970 \pm 0.009$

### 3 讨论

在流动相的选择上, 我们选择了甲醇水系统、乙腈水系统, 分别加入酒石酸、磷酸、醋酸、氨水、三乙胺等酸碱, 结果发现乙腈水系统加入醋酸、三乙胺的流动相系统分离效果较好。从色谱图看, 各个色谱峰都能得到很好的分离效果。同时流动相的 pH 值对分离效果影响较大。

在同一色谱条件下, 对多个延胡索生物碱进行测定是有可能的。因此, 我们建议进一步开展延胡索生物碱的分离纯化工作, 得到更多种的对照品, 全面提升延胡索药材质量标准的水平。

### [参考文献]

[1] 许翔鸿, 王峰涛. 延胡索中生物碱成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(6): 483-486.  
[2] Wu T S, Leu Y L, Kuoh C S, et al. Cytotoxic principles from Saussurealappa and Corydalis urtshaninoviif. yanhusuo [J]. Journal of the Chinese Chemical Society, 1997, 44: 357-359.