

不同比例配伍的延胡索-川楝子药对中延胡索乙素的含量测定

朱应刚^{1*}, 李晓英², 孙洪胜^{2#}(1. 山东中医药大学, 济南 250014; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1793-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.15.23

摘要 目的: 建立测定不同比例配伍的延胡索-川楝子药对中延胡索乙素含量的方法, 揭示不同比例配伍的药对的合理性。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Phenomenex C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水(32:68, V/V), 检测波长为 282 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 25 ℃。结果: 延胡索乙素的质量浓度在 0.023~0.276 mg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9996$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均 < 2%; 平均加样回收率为 99.49%, RSD=2.34% ($n=6$)。延胡索乙素的质量分数随着药对中川楝子用量增加而增加, 延胡索和川楝子比例为 1:0→2:1→1:1→1:2 时, 延胡索乙素质量分数分别增加了 0.002%、0.024%、0.008%。结论: 该方法重复性好、灵敏度高、简便、准确, 可作为延胡索-川楝子药对中延胡索乙素含量的测定方法。

关键词 延胡索-川楝子; 药对; 延胡索乙素; 含量测定; 高效液相色谱法

Content Determination of Tetrahydropalmatine in Different Proportion of Drug-couple *Corydalis yanhusuo-Melia toosendan*

ZHU Ying-gang¹, LI Xiao-ying², SUN Hong-sheng²(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of tetrahydropalmatine in different proportion of *Corydalis yanhusuo-Melia toosendan*, and to reveal the rationality of different proportion of the drug-couple. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Phenomenex C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (32:68, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 282 nm and column temperature was 25 ℃. RESULTS: The linear range of tetrahydropalmatine were 0.023-0.276 mg/ml ($r=0.9996$) with an average recovery of 99.49% (RSD=2.34%, $n=6$). The RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The contents of tetrahydropalmatine increased with the increase of drug-couple. The proportion of *C. yanhusuo* to *M. toosendan* were 1:0, 2:1, 1:1 and 1:2, and the contents of tetrahydropalmatine increased by 0.002%, 0.024% and 0.008%, respectively. CONCLUSIONS: The method is good in repeatability, high in sensitivity, simple and accurate in operation, and it is suitable for the content determination of tetrahydropalmatine of drug-couple *C. yanhusuo-M. toosendan*.

KEY WORDS *Corydalis yanhusuo-Melia toosendan*; Drug-couple; Tetrahydropalmatine; Content determination; HPLC

金铃子散首见于刘完素《素问·病机气宜保命集》, 由川楝子、延胡索等量配比而成, 二药相配为治疗胸痛、脘腹疼痛的常用方剂^[1]。根据临床两味中药常用配伍比例, 本试验以延胡索和川楝子 1:0、2:1、1:1、1:2 的比例配伍, 考察延胡索乙素的含量变化, 建立该药对中延胡索乙素的含量测定方法。

1 材料

1.1 仪器

600E 高效液相色谱(HPLC)仪(美国 Waters 公司); 5200H 超声波提取器(上海科导超声仪器有限公司); CP2250 电子分析天平[奥豪斯国际贸易(上海)有限公司]; 60C 医用低速离心机(河北省安新县白洋离心机厂)。

1.2 试剂

* 硕士研究生。研究方向: 中药新剂型、新技术。E-mail: zhuying-gang123@sina.com

通信作者: 主任药师, 硕士研究生导师。研究方向: 药物新剂型、新技术与新药研发。电话: 0531-82929059。E-mail: shs7777@163.com

延胡索乙素对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110726-201112); 甲醇、磷酸(色谱纯, 天津市四友精细化学品有限公司); 水为双蒸水。

1.3 药材

延胡索、川楝子(亳州市中信中药饮片厂, 批号分别为 20120629、20120517)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Phenomenex C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸水(32:68, V/V); 检测波长: 282 nm; 柱温: 25 ℃; 流速: 1.0 ml/min; 进样量: 10 μl。

2.2 溶液的制备与系统适用性试验

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品 2.30 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取延胡索和川楝子粉末各 5.00 g, 共 10.00 g, 粉碎, 过一号筛, 置于 150 ml 三角瓶中, 加 10

倍量的水浸泡 30 min 后超声(功率:200 W,频率:50 kHz)1 h,用纱布滤过,续滤液浓缩定容于 25 ml 量瓶中,取 10 ml 置于离心管中,4 000 r/min 离心 15 min,再过 0.22 μm 微孔滤膜,即得延胡索和川楝子 1:1 的供试品溶液。同法制备比例为 1:2(延胡索 5.00 g、川楝子 10.00 g)、2:1(延胡索 10.00 g、川楝子 5.00 g)、1:0(延胡索 5.00 g、川楝子 0 g)的供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 精密称定川楝子 5.00 g,按“2.2.2”项下方法制备不含延胡索的阴性对照溶液。

2.2.4 系统适用性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件依次进样测定。结果表明,阴性对照对延胡索乙素的测定无干扰。色谱见图 1。

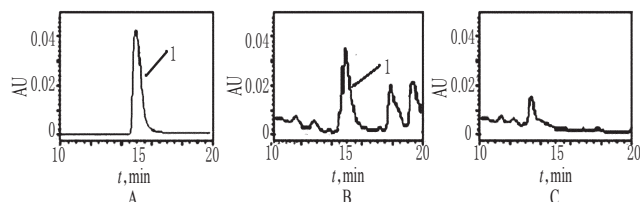


图 1 高效液相色谱图

A. 延胡索乙素对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 延胡索乙素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. tetrahydropalmatine control; B. test samples; C. negative control; 1. tetrahydropalmatine

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密量取延胡索乙素对照品溶液 1、2、4、6、8、10、12 ml,用甲醇稀释并定容至 10 ml 量瓶中,分别进样 10 μl,按“2.1”项下色谱条件测定并记录峰面积。以峰面积积分值(y)为纵坐标,对照品质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=211\ 911c-57\ 094$ ($r=0.999\ 6, n=7$)。结果表明,延胡索乙素的质量浓度在 0.023~0.276 mg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.3.2 精密度试验 取延胡索乙素对照品溶液,在上述色谱条件下连续进样 6 次,每次 10 μl,记录延胡索乙素峰面积。结果, $RSD=1.53\%$ ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批延胡索和川楝子粉末各适量,共 6 份,分别按“2.2.2”项下方法制备 1:1 的供试品溶液,在上述色谱条件下进样,每次 10 μl,记录延胡索乙素峰面积。结果,延胡索乙素的平均质量分数为 0.140%, $RSD=1.66\%$ ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取延胡索和川楝子 1:1 的供试品溶液,在上述色谱条件下于 0、2、4、6、8 h 进样,每次 10 μl,记录延胡索乙素峰面积。结果, $RSD=1.63\%$ ($n=5$),表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.3.5 加样回收率试验 取延胡索(已知含量)和川楝子粉末各 0.05 g,共 0.1 g,精密加入延胡索乙素对照品 1.380 mg,按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果见表 1。

2.4 样品含量测定

取“2.2.2”项下制备的不同比例配伍的延胡索-川楝子药对的供试品溶液,在上述色谱条件下分别进样 10 μl,平行测定 3

表 1 加样回收率试验结果($n=6$)

序号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1	1.394	1.380	2.76	98.98	99.49	2.34
2	1.395	1.380	2.81	102.53		
3	1.395	1.380	2.73	96.73		
4	1.398	1.380	2.75	97.97		
5	1.389	1.380	2.75	98.62		
6	1.391	1.380	2.80	102.10		

次,计算药对中延胡索乙素的质量分数,结果见表 2。

表 2 不同比例配伍的延胡索和川楝子药对中延胡索乙素的含量测定结果($n=3$)

配伍比例	延胡索乙素的质量分数,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1:0	0.116	0.115	1.00
	0.116		
	0.114		
1:1	0.138	0.139	0.72
	0.139		
	0.140		
1:2	0.149	0.147	1.71
	0.147		
	0.144		
2:1	0.116	0.117	0.85
	0.117		
	0.118		

3 讨论

延胡索乙素为叔胺类生物碱,难溶于水^[2],故在提取方法上采取了超声提取法,相比较回流提取法更简便、可行、准确。笔者曾采用 2010 年版《中国药典》(一部)延胡索项下延胡索乙素含量测定的流动相——甲醇-1%磷酸水(55:45, V/V, 三乙胺调 pH 值为 6.0)^[3]进行试验,但目标峰分离度不好;也采用过甲醇-1%磷酸水(60:40, V/V, 三乙胺调 pH 值为 6.0)^[4]进行试验,也存在目标峰分离度不好的问题。后经过反复试验,选择甲醇-0.1%磷酸水(32:68, V/V)为流动相,目标峰峰形良好,保留时间适宜, $t_R=14.9$ min。

延胡索与川楝子 1:1(延胡索 5.00 g、川楝子 5.00 g)、1:2(延胡索 5.00 g、川楝子 10.00 g)、2:1(延胡索 10.00 g、川楝子 5.00 g)和 1:0(延胡索 5.00 g、川楝子 0 g)的配伍比例为临床常用配伍范围。当延胡索/川楝子的比例为 1:0→2:1→1:1→1:2 时,延胡索乙素的平均质量分数随着川楝子用量的增加分别增加了 0.002%、0.024%、0.008%,表明川楝子与延胡索配伍后能够提高延胡索中延胡索乙素的溶出率。而且,川楝子与延胡索配伍还能影响延胡索中脱氢紫堇碱的吸收。林力等^[5]在研究复方配伍对延胡索总生物碱中主要成分体外吸收的试验中发现,复方配伍对延胡索乙素的体外吸收虽没有影响,但可以显著提高延胡索中脱氢紫堇碱的体外吸收。另外,川楝子的有效成分也可能是其有毒成分^[6],且其毒性呈时效、量效关系^[7],因此在用于临床时应寻找一个延胡索和川楝子最佳配伍

双波长HPLC法同时测定安乳散结丸中芍药苷与迷迭香酸的含量

王新娣*, 石晓峰#, 沈薇(甘肃省医学科学研究院, 兰州 730050)

中图分类号 R283.64;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1795-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.24

摘要 目的:建立同时测定安乳散结丸中芍药苷与迷迭香酸含量的方法。方法:采用双波长高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Eclipse plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸水(20:80, V/V),检测波长为230 nm(芍药苷)和330 nm(迷迭香酸),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃。结果:芍药苷与迷迭香酸的质量浓度分别在4.20~42.00、4.10~41.00 ng/μl范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系(*r*均为0.999 9);精密性、重复性、稳定性试验的RSD均<2%;平均加样回收率分别为98.82%和97.80%,RSD分别为1.90%和1.23%(*n*均为9)。结论:本方法操作简便、结果可靠、重复性好,可用于安乳散结丸的质量控制。

关键词 安乳散结丸;芍药苷;迷迭香酸;含量测定;双波长高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Paeoniflorin and Rosmarinic Acid in Anru Sanjie Pill by Dual-wavelength HPLC

WANG Xin-di, SHI Xiao-feng, SHEN Wei(Gansu Academy of Medical Science, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of paeoniflorin and rosmarinic acid in Anru sanjie pill. METHODS: The dual-wavelength HPLC was adopted. The analytical column was Agilent Eclipse plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphonic acid (20:80, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 230 nm for paeoniflorin and 330 nm for rosmarinic acid. The column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear ranges of paeoniflorin and rosmarinic acid were 4.20-42.00 ng/μl and 4.10-41.00 ng/μl(*r*=0.999 9). RSDs of precision test, reproducibility test and stability test were all lower than 2%. The average recoveries were 98.82% and 97.80%, and RSD were 1.90% and 1.23% (*n*=9), respectively. CONCLUSION: The method is simple, reliable and has good repeatability. It can be used for quality control of the product.

KEY WORDS Anru sanjie pill; Paeoniflorin; Rosmarinic acid; Content determination; Dual-wavelength HPLC

安乳散结丸是由柴胡、丹参、白芍、夏枯草、牡丹皮等13味中药材制成的水丸,具有疏肝解郁、化痰散结之功效,临床上主要用于乳腺炎、乳腺增生的治疗。在安乳散结丸处方中,白芍和牡丹皮共有的活性成分芍药苷具有多种生物作用,如抗菌消炎、调节免疫功能等^[1];夏枯草和丹参共有的活性成分迷迭香酸具有抗炎、抗氧化、免疫抑制、抗癌、抗血栓和抗血小板聚集等作用^[2]。为有效控制该制剂的内在质量,本试验采用双波长高效液相色谱(HPLC)法建立了同时测定消乳散结丸中

芍药苷和迷迭香酸含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪(美国Agilent公司);AE 260型万分之一电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);CP 225型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);SK3310HLC型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

比例,既能最大增加延胡索中延胡索乙素的溶出,又能使毒性降到最小,这有待进一步的实验探讨。

参考文献

- [1] 于晓佳.金铃子散两种透皮贴剂新制剂的研究[D].天津:天津大学,2005.
- [2] 张玲,李涛,李秀娟,等. HPLC法测定元胡及配伍药对中原胡索乙素的含量[J].兰州大学学报,2007,33(2):50.

* 实习研究员, 硕士。研究方向:天然产物分离分析。电话:0931-2614521-6110。E-mail:wxdi07@163.com

通信作者:主任药师,教授。研究方向:天然药物化学与中药质量标准。电话:0931-2615440。E-mail:shixiaofeng2005@sina.com

- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:130.
- [4] 陈德利,马霖,曹玉,等.HPLC法测定蒲元胃康胶囊中延胡索乙素的含量[J].中国药房,2009,20(9):690.
- [5] 林力,刘建勋,张颖,等.组分配伍对延胡索总生物碱中主要成分体外吸收的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):203.
- [6] 程蕾,雷勇,梁媛媛,等.川楝子不同提取部位药效及毒性的比较研究[J].中药材,2007,30(10):1 276.
- [7] 齐双岩,金若敏,周志兰,等.川楝子对大鼠肝毒性的时效和量效关系研究[J].毒理学杂志,2007,21(4):301.

(收稿日期:2012-08-02 修回日期:2013-02-22)