

HPLC 法测定妇科止痒胶囊中延胡索的含量

李惠 梁晓莉 赵欢欢 郭芸

(陕西步长制药有限公司 陕西 咸阳 712000)

摘要: 目的: 建立妇科止痒胶囊延胡索中延胡索乙素成分的高效液相色谱法含量测定方法, 为保证产品的质量提供依据。方法: 运用 HPLC 方法测定, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 甲醇-0.1%三乙胺溶液 [磷酸调节 pH 至 7.5] (55:45) 为流动相, 检测波长 280nm。理论板数按延胡索乙素峰计算应不低于 4000。结果: 延胡索乙素在 0.085-0.636 μg 范围内成线性, 线性关系良好 ($Y=14.93X-0.0293$, $R^2=0.9999$); 准确度试验中回收率分别为: 91.16%、89.46%、89.72%、88.59%、94.99%、88.05, 平均回收率为 90.33%, $RSD=2.8\%$ ($n=6$)。结论: 本方法简单易操作, 稳定性良好, 可用于产品质量控制。

关键词: 延胡索; 延胡索乙素; HPLC 法; 妇科止痒胶囊

Determination of Corydalis in Fuke Zhiyang Capsules by HPLC

Li Hui, Liang Xiao-li, Zhao Huan-huan, Guo Yun

(Shaanxi Buchang Pharmaceutical Co., Ltd., Xianyang, Shaanxi 712000)

[Abstract] Objective: To establish a high performance liquid chromatography method for the determination of tetrahydropalmatine in Fuke Zhiyang Capsule Corydalis yanhusu, to provide a basis for ensuring the quality of the product. Method: Measured by HPLC method, using octadecylsilane-bonded silica gel as the filler; methanol-0.1% triethylamine solution [pH adjusted to 7.5 by phosphoric acid] (55:45) as the mobile phase, and the detection wavelength is 280nm. The number of theoretical plates should not be less than 4000 calculated according to the peak of tetrahydropalmatine. Results: Tetrahydropalmatine was linear in the range of 0.085~0.636 μg , and the linear relationship was good ($Y=14.93X-0.0293$, $R^2=0.9999$); the recoveries in the accuracy test were: 91.16%, 89.46%, 89.72%, 88.59 %, 94.99%, 88.05, the average recovery rate was 90.33%, $RSD=2.8\%$ ($n=6$). Conclusion: This method is simple and easy to operate, has good stability, and can be used for product quality control.

[Keywords] Corydalis; tetrahydropalmatine; HPLC method; Fuke Zhiyang capsule

延胡索乙素来源于罂粟科植物延胡索的块茎。其镇痛作用比解热镇痛药强, 对慢性持续性疼痛及内脏钝痛的效果较好, 在发挥镇痛作用的同时还有镇静催眠作用。本研究通过采用高效液相色谱法对妇科止痒胶囊中的延胡索乙素含量进行测定。保障了产品质量、安全、可靠。妇科止痒胶囊主要功效为清热燥湿, 杀虫止痒。本法采用高效液相色谱法, 以有效控制延胡索乙素含量提供依据。

1、材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪 (岛津公司 LC-2030C、安捷伦 1260、赛默飞 U3000-03); 色谱柱 (Aglient)。

1.2 对照品

延胡索乙素对照品: 中国食品药品检定研究院。

1.3 试剂

甲醇、环己烷、氨水、三乙胺、磷酸均为分析纯。

1.4 样品

妇科止痒胶囊 (陕西步长制药有限公司)

2、方法与结果

2.1 对照品溶液制备

表 1-1 精密度试验

测定次数	1	2	3	4	5	6	RSD (%)
保留时间	33.515	33.511	33.545	33.580	33.608	33.598	0.12%
峰面积	6.361	6.309	6.389	6.347	6.366	6.369	0.43%

2.4.2 重复性考察

精密称取同一批号供试品 2g, 平行制备 6 份。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μl , 注入液相色谱仪。试验结果见表 2-1。结果显示 6 份样品平均含量为 197.62%, $RSD (%)$ 值为 2.88% ($n=6$), 该方法重复性良好。

表 2-1 重复性考察结果

取延胡索乙素对照品适量, 加甲醇溶液制成每 1ml 含延胡索乙素 40 μg 的溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取本品适量, 混合均匀, 精密称取 2g, 置锥形瓶中, 加入浓氨溶液 5ml, 浸泡 30 分钟, 加环己烷 100ml, 回流 2 小时, 放冷, 滤过, 药渣及滤器用环己烷分两次洗涤, 洗液并入滤液中, 水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移至 10ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 检测条件:

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 甲醇-0.1%三乙胺溶液 [磷酸调节 pH 至 7.5] (55:45) 为流动相, 检测波长 280nm。理论板数按延胡索乙素峰计算应不低于 4000。

2.4 精密度试验

2.4.1 仪器精密度考察

吸取对照品溶液 10 μl 注入液相色谱仪, 连续重复进样 6 次。记录其保留时间及峰面积值。仪器精密度试验结果见表 1-1。结果显示精密度良好。

样品号	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD (%)
含量 (μg/g)	192.23	201.69	191.52	199.58	205.97	194.06	197.62	2.88%

2.4.3 中间精密度考察

两名检验员在同一实验室、不同时间,精密称取同一批号供试品 2g, 分别平行 6 份, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各

10 μl, 注入液相色谱仪, 即得。试验结果见表 3-1。结果表明不同分析人员测得含量平均值为 195.44, 相对平均偏差(%) 值为 1.58%, 该方法中间精密度良好。

表 3-1 中间精密度考察结果

编号	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD (%)	平均 值	相对平均偏 差(%)
检验员 1	192.23	201.69	191.52	199.58	205.97	194.06	197.62	2.88	195.44	1.58%
检验员 2	190.74	197.19	193.32	189.53	192.8	195.96	193.26	1.52		

2.5 准确度试验

用对照品进行加样回收率测定。平行制备 6 份, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪, 即得。准确度结果见表 4-1。结果表明, 本方法测定延胡索乙素回收率在 85% ~ 110% 之间, 平均值为 90.33%, RSD (%) 值为 2.79%, 该方法准确度良好。

表 4-1 回收率试验结果 (标准要求: 85% ~ 110%)

编号	取样量(g)	样品理论 含量(μg)	对照品加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD(%)
1	1.0062	194.4582	195	372.2272	91.16	90.33	2.79
2	1.0025	193.7432		368.1926	89.46		
3	1.0030	193.8398		368.7978	89.72		
4	1.0076	194.7288		367.4866	88.59		
5	1.0043	194.0910		379.3214	94.99		
6	1.0011	193.4726		365.1667	88.05		

2.6 线性范围考察

精密吸取延胡索乙素对照品溶液 2 μl、5 μl、10 μl、15 μl、20 μl。以进样质量为横坐标 (X), 以色谱峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。结果见表 5-1。结果表明该方法在进样质量在 0.085-0.849 μg 之间成良好的线性关系。

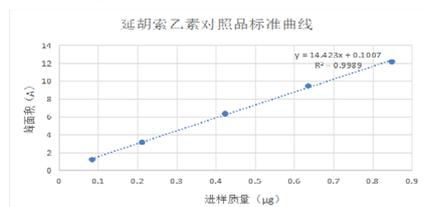


表 6-1 溶液稳定性考察结果

时间 (h)	0h	4h	9h	16h	24h	4 天	平均值	RSD(%)
含量 (μg/g)	192.61	195.04	196.29	197.50	198.65	189.49	191.05	1.77

3、结论

通过对妇科止痒胶囊中延胡索乙素含量测定试验研究, 并按照 2020 版《中国药典》第四部“通则 9101” 对该方法进行了验证, 结果表明, 方法准确度、重复性、线性及溶液稳定性良好, 可作为妇科止痒胶囊延胡索乙素含量测定方法。

4、参考文献

[1] 国家药典委员会编.中国药典 2020 年版四部.北京: 中国医药科技出版社, 2020:480 ~ 483
 [2] 国家药典委员会编.中国药典 2020 年版一部.北京: 中国医药科技出版社, 2020:145 ~ 146

5-1 延胡索乙素对照品标准曲线

2.7 溶液稳定性考察

取重复性项下供试品溶液 1, 分别在 0、4、9、16、24、96 小时测定, 溶液稳定性考察结果见表 6-1, 实验数据表明, 供试品溶液分别于不同时间间隔测定吸光度, 其总黄酮含量平均值为 191.05, RSD 值为 1.77% (n=6)。该供试品溶液在室温下放置 4 天内稳定性良好。

[3] 匡学海主编.中药化学.北京: 中国中医药出版社, 2003.1 (2015.4 重印)

[4] 张艳华, 包淑云, 年四辉, 喻丽珍, 刘人豪.醋炙元胡中延胡索乙素不同提取方法比较.赤峰学院学报(自然科学版), 2018.34(6):75 ~ 77

[5] 武向锋, 沈娟, 曹红, 刘俊, 朱臻宇, 柴逸峰.反向高效液相色谱法测定妇科软胶囊中延胡索乙素的含量.中南药学, 2007.5(1):45 ~ 47