

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.18.008

高效液相色谱法测定毛黄堇不同部位脱氢卡维丁含量

吴佳

(重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121)

摘要:目的 建立测定毛黄堇中有效成分脱氢卡维丁的高效液相色谱(HPLC)法,并对毛黄堇药材的不同部位进行分析,为毛黄堇质量标准的制订提供参考。方法 色谱柱采用 Agilent C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为磷酸盐缓冲溶液(每1 L含20 mmol 磷酸二氢钾,10 mmol 二乙胺,0.1% 磷酸)-乙腈(72:28),流速为1.0 mL/min,柱温为35℃,检测波长为347 nm。结果 脱氢卡维丁进样量在0.040 08~2.404 80 μg($r=0.999\ 1$, $n=7$)范围内与峰面积线性关系良好;平均回收率为97.71%,RSD为1.78%($n=9$)。药材不同部位中根部含量最高。结论 该方法快速、准确,可用于毛黄堇中类似生物碱成分的质量控制。

关键词:毛黄堇;高效液相色谱法;脱氢卡维丁;含量测定;质量控制

中图分类号:R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)18-0025-03

Content Determination of Dehydrocavidine in Different Parts of *Corydalis Tomentella* by HPLC

Wu Jia

(Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for content determination of dehydrocavidine in *Corydalis tomentella*, and analyze the different parts of *Corydalis tomentella* in order to provide evidences for setting quality standards for *Corydalis tomentella*. **Methods** The Agilent C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was phosphate buffered saline solution(1 L solution contained 20 mmol monopotassium phosphate, 10 mmol diethylamine, 0.1% phosphoric acid)-acetonitrile(72:28), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 35℃, and the detection wavelength was 347 nm. **Results** The linear ranges of dehydrocavidine was within 0.040 08-2.404 80 μg($r=0.999\ 1$, $n=7$). The average recovery was 97.71%, RSD was 1.78%($n=9$). The roots had the highest content among different parts of *Corydalis tomentella*. **Conclusion** The method is rapid and accurate, which can be used for the quality control of analogous alkaloids in *Corydalis tomentella*.

Key words: *Corydalis tomentella*; HPLC; dehydrocavidine; content determination; quality control

毛黄堇 *Corydalis tomentella* Franch. 系罂粟科紫堇属植物,产于湖北西部、四川东部至南部、重庆、陕西南部,又名干岩砑,全草皆可入药,为民间贵重中草药^[1-2]。其具有抗菌、消炎、镇痛和强安定作用,主治疮痍肿毒、肝炎、肝硬化、肝癌等症^[3-4]。毛黄堇与石生黄堇^[5-6]均含有明确的药理活性成分脱氢卡维丁,且含量较高^[7]。本研究中建立了测定毛黄堇中脱氢卡维丁含量的高效液相色谱(HPLC)法,考虑毛黄堇为全草入药,各部位之间的脱氢卡维丁含量可能存在差异^[5],故对其不同部位叶、叶柄及根茎进行了定量分析。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(包括四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器,Agilent 1260 工作站),BP221S 型、MSA225S-100-DU 型电子天平(德国赛多利斯公司);KQ-500B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);烘箱(德国 Binder 公司)。

1.2 试剂

脱氢卡维丁对照品(中国食品药品检定研究院,批

号为111732-200904);毛黄堇由重庆市药物种植研究所提供,采集地为南川金佛山,由本院蒋万浪主任中药师鉴定为正品;乙腈为色谱纯,二乙胺、甲醇、盐酸、磷酸二氢钾、磷酸均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

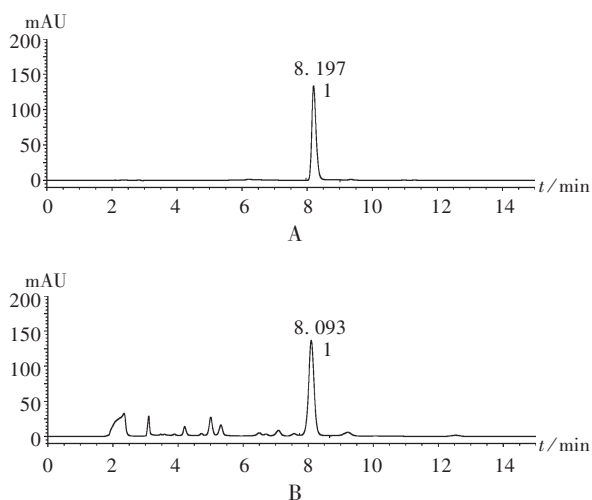
2.1 溶液制备

取五氧化二磷中减压干燥至恒重的脱氢卡维丁对照品适量,精密称定,加1%盐酸甲醇溶液制成每1 mL含0.200 4 mg的对照品溶液^[8]。取本品粉末(过2号筛)约0.2 g,精密称定,至具塞锥形瓶中,加1%盐酸甲醇溶液50 mL,称定质量,超声处理(功率为250 W,频率为40 kHz)30 min,置室温,用甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:磷酸盐缓冲溶液(每1 L含20 mmol 磷酸二氢钾,10 mmol 二乙胺,0.1% 磷酸)-乙腈(72:28);流速:1 mL/min;柱温:35℃;检测波长:347 nm;进样量:10 μL。

在此色谱条件下,分别进样对照品溶液和供试品溶液各10 μ L,色谱峰峰形良好,达到较理想的分离结果,理论板数按脱氢卡维丁峰计算大于4 000,具有较好的专属性,分析条件可行。色谱图见图1。



1. 脱氢卡维丁

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

2.3 方法学考察

线性关系考察:分别精密吸取对照品贮备液0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0 μ L,按拟订色谱条件进样测定。以质量浓度的对数(X)和对应峰面积的对数(Y)计算回归方程,得 $Y = 2\,833.6X + 99.236$, $r = 0.999\,1$ ($n = 7$),线性范围为0.040 08 ~ 2.404 80 μ g。

精密度试验:取同一对照品溶液,按拟订色谱条件重复进样6次。结果的 RSD 为0.32% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液,室温下放置,分别于0, 2, 4, 8, 12 h时按拟订色谱条件进样测定。结果的 RSD 为0.9% ($n = 6$),表明供试品溶液在12 h内稳定。

重复性试验:取同一批样品6份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定。结果的 RSD 为1.8% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的毛黄堇(3.028 2 mg/g, 未除水分)9份,精密称定0.1 g,分别精密加入低、中、高浓度的对照品贮备液,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表1。

2.4 样品含量测定

将毛黄堇全草进行部位拆分,分别得叶、叶柄、根及根茎3个部位,将上述3份样品置硅胶中干燥48 h,取上述3份样品,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,同时按2015年版《中国药典(四部)》通则0832第二法测定水分。结果见表2。

表1 脱氢卡维丁加样回收试验结果($n = 9$)

样品量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.105 4	0.319 2	0.240 5	0.552 8	97.13		
0.102 1	0.309 2	0.240 5	0.553 6	101.64		
0.100 5	0.304 3	0.240 5	0.542 1	98.88		
0.107 9	0.326 7	0.300 6	0.614 8	95.84		
0.103 4	0.313 1	0.300 6	0.601 6	95.97	97.71	1.78
0.108 5	0.328 6	0.300 6	0.621 5	97.44		
0.104 1	0.315 2	0.360 7	0.668 4	97.92		
0.100 4	0.304 0	0.360 7	0.654 2	97.09		
0.102 2	0.309 5	0.360 7	0.661 1	97.48		

表2 样品含量测定结果($n = 3$)

样品	脱氢卡维丁(按干燥品计)	
	含量(mg/g)	RSD (%)
叶	4.226	1.02
叶柄	11.853	0.92
根及根茎	40.838	0.94

3 讨论

曾尝试用以下2种溶剂制备供试品溶液:1%盐酸甲醇溶液;流动相溶液[磷酸盐缓冲溶液(每1 L含20 mmol磷酸二氢钾,10 mmol二乙胺,0.1%磷酸)-乙腈(72:28)]^[9]。结果采用第1种溶剂,有效成分提取更完全,且杂质较少。试验了0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液-乙腈的流动相系统^[10],但脱氢卡维丁峰对称性较差,易拖尾。

经过对脱氢卡维丁的二极管阵列扫描,发现有2个较大的紫外吸收峰,最强吸收峰在274 nm波长处^[11],次吸收峰在347 nm波长处。但采用274 nm为检测波长时杂质干扰较多,而选用347 nm作为检测波长时干扰较小^[12-13],故最终选用347 nm作为检测波长。

综上所述,通过对毛黄堇植物各部位脱氢卡维丁含量的考察发现,在根及根茎中脱氢卡维丁的含量最高,叶柄次之,叶中含量最低,仅为根及根茎中的1/10。根据上述试验,不仅掌握了毛黄堇中脱氢卡维丁的含量分布,更为制订毛黄堇质量标准及限度提供了参考依据。HPLC法测定毛黄堇中脱氢卡维丁含量,操作简便,结果可靠,色谱图可反映毛黄堇的特征,对其质量控制具有重要意义。

参考文献:

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典(上册)[M]. 第2版. 上海:上海科学技术出版社,2006:105.
- [2] 中国科学院四川分院中医中药研究所. 四川中药志(第一册)[M]. 成都:四川人民出版社,1982:52.
- [3] 黄茂春,谢丽莎,李 婷. 岩黄连化学成分分析及临床应用