

## · 药物分析 ·

## HPLC 法测定莲连胶囊中延胡索乙素的含量

宋磊<sup>1</sup> 纪峰<sup>2</sup> (1. 上海市长宁区中心医院, 上海 200336; 2. 上海市闸北食品药品检验所, 上海 200436)

**[摘要]** 目的 建立 HPLC 法测定莲连胶囊中延胡索乙素含量的方法。方法 采用高效液相色谱法, 以该胶囊中的延胡索乙素为定量指标, 测定延胡索的含量。结果 延胡索乙素在 7.908 ~ 158.06  $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内峰面积具有良好的线性关系, 平均回收率为 96.18% *RSD* 为 1.2%。结论 建立的定量方法具有专属性好, 准确、灵敏和可靠的特点, 可用于莲连胶囊中延胡索乙素的含量测定及质量控制。

**[关键词]** 莲连胶囊; 延胡索乙素; 高效液相色谱法; 含量测定

**[中图分类号]** R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)05-0376-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.05.016

## Determination of tetrahydropalmatine in Lianlian capsule by HPLC

SONG Lei<sup>1</sup>, JI Feng<sup>2</sup> (1. Changning District Central Hospital, Shanghai 200336, China; 2. Institute for Drug and Food Control of Zha-bei District, Shanghai 200436, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a HPLC method for tetrahydropalmatine in Lianlian capsule. **Method** The determination method of Lianlian capsule was carried out by HPLC, which quantitative index was represented with tetrahydropalmatine. **Result** The calibration curves was linear in the range of 7.908 ~ 158.06  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for tetrahydropalmatine. The average recovery was 96.18% (*RSD* 1.2%). **Conclusion** The method was exclusive, accurate and reliable, which could be used for improvement of quality control in Lianlian capsule.

**[Key words]** Lianlian capsule; tetrahydropalmatine; HPLC; assay

莲连胶囊为上海市中医院的医院制剂, 由积壳、连翘、延胡索(醋制)、白及、白术(麸炒)、半枝莲六味药组成, 具有清胃和中、消炎灭菌的作用。临床上用于因幽门螺旋杆菌感染所致的胃、十二指肠球部溃疡及慢性胃炎。本制剂已长期在临床使用, 疗效好。然而本制剂的原质量标准中没有含量测定项。为此作者根据醋延胡索为本方中的君药, 选择延胡索药材的主要有效成分延胡索乙素为质量控制的指标, 本文参照《中国药典》2010 年版一部延胡索乙素含量测定的有关文献<sup>[1-4]</sup>, 采用高效液相色谱法对其进行了测定。该方法专属性好, 准确、灵敏、可靠, 为完善和提高莲连胶囊质量标准提供依据。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国); CP124S 型电子天平(德国); BRANSON 超声波仪(德国); 色谱柱(XDB-C<sub>18</sub> 4.6 mm × 250 mm 5  $\mu\text{m}$ )。

**1.2 试剂与试剂** 延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110726-200409); 乙腈为色

谱纯; 水为重蒸水; 其余试剂均为分析纯; 莲连胶囊制剂和阴性对照品均有上海市中医院提供。

## 2 实验方法与结果

**2.1 色谱条件** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-0.6% 冰醋酸(三乙胺调 PH 至 6.0) (40 : 60) 为流动相; 检测波长为 280 nm; 流速 1.0 ml/min; 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 20  $\mu\text{l}$ ; 理论塔板数按延胡索乙素峰计算应不低于 5 000。

**2.2 对照品溶液制备** 精密称取延胡索乙素对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含 48  $\mu\text{g}$  的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 50 粒, 混合均匀, 取约 5 g, 精密称定, 精密加入氨水-甲醇(1 : 20) 混合溶液 50 ml, 称定重量, 水浴加热回流 1 h, 放冷, 称定重量, 用氨水-甲醇(1 : 20) 混合溶液补足减失的重量, 滤过, 精密量取续滤液 25 ml, 水浴浓缩至近 10 ml, 加在中性氧化铝柱(100 ~ 200 目, 5 g, 内径为 1 cm) 上, 继用甲醇 50 ml 洗脱, 合并流出液和洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 定容至 5 ml 容量瓶中, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ ) 滤过, 即得。

**2.4 专属性试验** 按处方量配制缺延胡索的阴性对照样品 5 g, 按照“2.3”项下的方法制备空白

**[作者简介]** 宋磊(1972-), 女, 主管药师。Tel: 13661829392, E-mail: denis199969@qq.com.

溶液,再按“2.1”项下的方法测定,比较了供试品溶液,延胡索对照品溶液,阴性对照液的色谱图。结果样品中延胡索乙素与其他主分色谱峰能达到

基线分离,阴性对照液在与延胡索乙素对照品相同的保留时间处未出现相同的色谱峰,故认为测定无干扰。

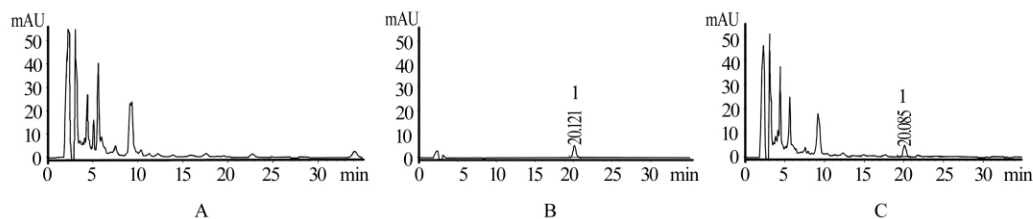


图 1 莲连胶囊空白 (A)、对照 (B) 和样品 (C) 色谱图  
1-延胡索乙素

**2.5 线性关系考察** 精密称取延胡索乙素对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 0.790 8 mg 的溶液,作为母液。分别精密吸取 0.5、1.3、5、6、10 ml 置 50 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度。按上述色谱条件测定峰面积,以进样浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,回归方程为  $Y = 17.671X - 1.2635$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明,延胡索乙素在 7.908 ~ 158.06  $\mu\text{g/ml}$  范围内呈良好线性关系。

**2.6 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 20  $\mu\text{l}$ ,按“2.1”项下的方法测定,连续进样 6 次,测定峰面积,结果延胡索乙素峰面积的 RSD 为 0.49%。

**2.7 重复性试验** 取同一批号(批号为 110101)的样品 6 份,分别按“2.3”项下的方法制备供试品溶液,在按“2.1”项下的方法测定,结果平均含量为 0.083 2 mg/g, RSD 为 0.62%。

**2.8 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液,按含量测定方法,分别在 0、4、8、12、24 h 进行测定。结果表明,供试品溶液在 24 h 内基本稳定。RSD 为 0.54%,可满足检测时间的需要。

**2.9 准确度试验(回收率试验)** 采用加样回收试验,取已知含量的同一批供试品(批号 110101,含量 0.083 2 mg/g) 6 份,每份 2.5 g,精密称定,分别精密加入延胡索乙素溶液(0.050 79 mg/ml) 4.0 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,即得加样回收溶液,按“2.1”项下的方法测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 准确度试验

| 取样量 (g) | 样品含量 (mg) | 加入量 (mg) | 测得量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|---------|-----------|----------|----------|---------|-----------|---------|
| 2.501 5 | 0.208 12  | 0.203 16 | 0.403 8  | 96.32   |           |         |
| 2.489 5 | 0.207 13  | 0.203 16 | 0.402 1  | 95.97   |           |         |
| 2.496 6 | 0.207 72  | 0.203 16 | 0.406 1  | 97.65   |           |         |
| 2.502 6 | 0.208 22  | 0.203 16 | 0.399 7  | 94.26   | 96.18     | 1.2     |
| 2.511 8 | 0.208 98  | 0.203 16 | 0.405 6  | 96.78   |           |         |
| 2.520 3 | 0.209 69  | 0.203 16 | 0.404 9  | 96.09   |           |         |

**2.10 样品测定结果** 按拟定的含量测定方法,对 3 批样品进行含量测定,计算延胡索乙素含量结果见表 2。

表 2 延胡索乙素含量测定 ( $n = 3$ )

| 样品批号   | 平均含量 (mg/粒) | RSD (%) |
|--------|-------------|---------|
| 110101 | 0.035 6     | 0.48    |
| 110408 | 0.032 7     | 0.62    |
| 110607 | 0.033 1     | 0.34    |
| 110801 | 0.025 9     | 0.56    |
| 111002 | 0.030 1     | 0.44    |

### 3 讨论

**3.1 提取方法的选择** 试验中考察回流提取、超声提取、索氏提取,结果回流提取效果较理想,其结果与索氏提取相当,考虑到回流提取的方法更符合在实际操作中使用,故选择回流提取方式。本实验中提取液经过中性氧化铝柱子以后,杂质对主成分干扰比较少,也有利于对色谱柱的保护。

**3.2 流动相的选择** 本试验考察了不同的流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0) (55 : 45),乙腈-0.6%冰醋酸(三乙胺调 pH 至 6.0) (40 : 60)。发现采用“2.1”的流动相时,延胡索乙素的保留时间适中,峰形好,分离度好,无杂质干扰。故采用此流动相。

**3.3 色谱柱的选择** 实验中选择了 Agilent ZORB-AX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 和 (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )。结果表明, (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 延胡索乙素分离效果更好,本实验选择 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱进行实验。

**3.4 本实验所得的方法简单准确,重现性及分离度** (下转第 383 页)

通过贝叶斯神经网络可信区间递推法(BCPNN)筛选得到可疑信号 1 340 个,并对该 1 340 个信号进行了敏感度与特异度的分析,得到结果:灵敏度 0.29(去除小于 3 例的报告后可达到 0.62),特异度 0.92,假阴性率 0.71,假阳性率 0.08,约登指数 0.21,ROC 曲线下面积 0.657( $P < 0.001$ )。2009 年第二军医大学统计学教研室利用上海市药物不良反应监测中心 2003 年 12 月~2007 年 4 月的数据库 32 746 份原始不良反应报告运用 ROR、POR、BCPNN、MHRA 分别监测到 1 430、1 419、868、997 个可能的药物-事件组合的信号。

**5.3 广东省药物不良反应监测中心的数据库**  
2009 年广东工业大学和第四军医大学合作利用广东省药物不良反应监测中心的数据库采用 BCPNN 方法对 2006 第 4 季度~2007 第 4 季度的甲硝唑和恶心反应信号监测,结果显示这 4 个季度的 IC 均 > 1.5,从而进行自动预警。

## 6 小结

上述所介绍的方法均是用来监测药物不良反应的信号,信号监测方法为药物和药物导致的 ADR 提供了额外的附加信息,且这些信息可以周期性的产生。此外定量的信号挖掘算法还可以被用于研究复杂的联系,比如药物和药物之间相互作用与相应的症状之间的关系,信号挖掘算法则是对传统方法分析的额外补充。文献研究显示,国际上使用的数据挖掘算法并没有一种统一的标准,每种方法都有其优点和局限性,目前国内仅有广东、上海、江苏 3 个地区药品不良反应监测中心借鉴国外的一些算法简单的对数据来发现不良信号。由于我国自动呈报系统数据的质量与国外存在差别,几种监测方法联合使用可同时监测到不同信号,因此根据研究的需要找出适合的药物不良反应的信号监测算法是十分必要的。由于我国患病人口基数大,使用这些方法在一定程度上不仅可以初步检验药品说明书上的不良反应书写的完整性,同时对于药品的安全用药也起到预防作用,增强药物使用的安全警戒,从而提高人

类的生命质量。

## 【参考文献】

- [1] Moore N, Thiessard F, Begaud B. The history of disproportionality measures (reporting odds ratio, proportional reporting rates) in spontaneous reporting of adverse drug reactions [J]. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2005, 14(4): 285.
- [2] Rahul S, Amitava M. An urn model with applications to database performance evaluation [J]. *Computers & Operations Research*, 1997, 24(4): 289.
- [3] Poluzzi E, Raschi E, Motola D *et al.* De Ponti F. Antimicrobials and the risk of torsades de pointes: the contribution from data mining of the US FDA Adverse Event Reporting System [J]. *Drug Saf*, 2010, 33(4): 303.
- [4] Woo EJ, Ball R, Burwen DR *et al.* Effects of stratification on data mining in the us vaccine adverse event reporting system [J]. *DrugSaf*, 2008, 31(8): 667.
- [5] 陈炯华,魏永越,谢雁鸣. 基于 SRS 的中药上市后安全性信号监测方法介绍 [J]. *中成药*, 2010, (06): 1036.
- [6] 叶小飞,王海南,陈文等. 数据挖掘在药物警戒中的应用 [J]. *中国药物警戒*, 2008, (01): 36.
- [7] Manfred Hauben, Sebastian Horn, Lester Reich Potential. Use of Data-Mining Algorithms for the Detection of surprise Adverse Drug Reactions [J]. *Drug Saf*, 2007, 30(2): 143.
- [8] Bate A, Lindquist M, Edwards IR *et al.* A Bayesian neural network method for adverse drug reaction signal generation [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 1998, 54(4): 315.
- [9] Man YP, Dukyong Y. A novel algorithm for detection of adverse drug reaction signals using a hospital electronic medical record database [J]. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2011, 20(6): 598.
- [10] Kim J, Kim M, Ha JH *et al.* Signal detection of methylphenidate by comparing a spontaneous reporting database with a claims database [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2011, 61(2): 154.
- [11] Hochberg AM, Hauben M, Pearson RK *et al.* An evaluation of three signal-detection algorithms using a highly inclusive reference event database [J]. *Drug Saf*, 2009, 32(6): 509.
- [12] Bate A. Bayesian confidence propagation neural network [J]. *Drug Saf*, 2007, 30(7): 623.
- [13] Kubota K, Koide D, Hirai T. Comparison of data mining methodologies using Japanese spontaneous reports [J]. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2004, 13(6): 387.

[收稿日期]2011-11-24

[修回日期]2012-05-16

(上接第 377 页)

好,能较好地测定莲连胶囊中延胡索乙素的含量,为完善和提高莲连胶囊质量标准提供了依据。

## 【参考文献】

- [1] 中国药典 2010 版.一部[S]. 2010: 130.
- [2] 吴坚. 高效液相法测定安胃片中延胡索乙素的含量 [J]. *江*

西医药 2011, 46(7): 659.

- [3] 蓝明雄. 醋制延胡索颗粒质量标准的研究 [J]. *中国中医咨询* 2011, 3(20): 66.
- [4] 王慧,费杨,黄玉凤等. 反相高效液相法测定乌金胶囊中的延胡索乙素 [J]. *第二军医大学学报* 2011, 32(9): 1040.

[收稿日期]2012-03-11

[修回日期]2012-04-25