

HPLC 法测定六经头痛片中的胡薄荷酮

周 军, 赵 晨, 王 杰

天津市药品检验所, 天津 300070

摘 要: **目的** 建立测定六经头痛片中胡薄荷酮的高效液相色谱法。**方法** 采用 Agilent Zorbax SB C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.05%磷酸水溶液为流动相, 进行梯度洗脱; 检测波长 256 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。**结果** 胡薄荷酮在 0.442 3~1 105.8 ng 与峰面积线性良好 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 97.59%, RSD 值为 1.54% ($n=6$)。**结论** 建立的方法专属性强、准确、快速, 可有效地控制六经头痛片的质量。

关键词: 六经头痛片; 胡薄荷酮; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2014)05-0500-03

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.012

Determination of pulegone in Liujiang Toutong Tablets by RP-HPLC

ZHOU Jun, ZHAO Chen, WANG Jie

Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of pulegone in Liujiang Toutong Tablets. **Methods** The separation of pulegone was carried out by using Agilent Zorbax SB C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase containing acetonitrile - 0.05% phosphoric acid aqueous with gradient elution. The detective wavelength was set at 256 nm. The flow rate was 1.0 mL/min with injection volume of 10 μL. **Results** The linearity range of pulegone was 0.442 3 — 1 105.8 ng ($r=0.999\ 9$), and the average recovery was 97.59% with RSD value of 1.54% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple and accurate with good recovery and repeatability, and suitable for the quality control of Liujiang Toutong Tablets.

Key words: Liujiang Toutong Tablets; pulegone; HPLC

六经头痛片由白芷、辛夷、荆芥穗油等 12 味中药组成, 用于全头痛、偏头痛及局部头痛。其质量标准收载于《卫生部药品标准中药成方制剂第二十册》(标准号 WS₃-B-3775-98)。原标准中仅有常规检查项内容, 无定量指标, 无法控制药品的质量。荆芥穗油具有解表散风、透疹的功效, 用于感冒、头痛、麻疹、风疹、疮疡初起, 与处方中的其他中药协同发挥疏风活络、止痛利窍的作用。荆芥穗油中活性成分为胡薄荷酮, 并且《中国药典》2010 年版一部荆芥穗药材项下中采用胡薄荷酮作为定量指标^[1]。为了有效地控制药品的质量, 本实验采用 HPLC 法测定了六经头痛片中的胡薄荷酮。

1 实验材料

岛津 LC—20AD 高效液相色谱仪, 配有 LC—

20AD 泵、SIL—20 自动进样器、SPD—20A 紫外检测器、CTO—20AC 柱温箱; LC-solution 色谱工作站。

乙腈、甲醇 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 磷酸 (分析纯, 天津市赢达稀贵化学试剂厂), 水为去离子水。胡薄荷酮对照品 (中国食品药品检定研究院提供, 批号 111706-201205, 供含量测定用, 质量分数为 99.8%)。

六经头痛片样品由天津中新药业集团股份有限公司隆顺裕制药厂提供, 规格为 0.35 g/片, 批号分别为 AI12353、AI12354、0811238、0901246。实验中使用的处方药材均由天津中新药业集团股份有限公司隆顺裕制药厂提供, 由天津市药品检验所吴贵华副主任药师鉴定, 均符合《中国药典》2010 年版

收稿日期: 2014-01-04

作者简介: 周 军 (1976—), 男, 副主任药师, 研究方向为中药质量控制。Tel: 13820329907 E-mail: happy76dragon.com@aliyun.com

一部相关标准的要求。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

Agilent Zorbax SB C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈 (A) - 0.05% 磷酸水溶液 (B) 为流动相, 进行梯度洗脱; 梯度洗脱程序: 0~30 min, 45%A, 30~31 min, 45%→90%A, 31~35 min, 90%A, 35~36 min, 90%→45%A, 36~45 min, 45%A; 检测波长 256 nm; 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。理论板数按胡薄荷酮峰计算应不低于 5 000。见图 1。

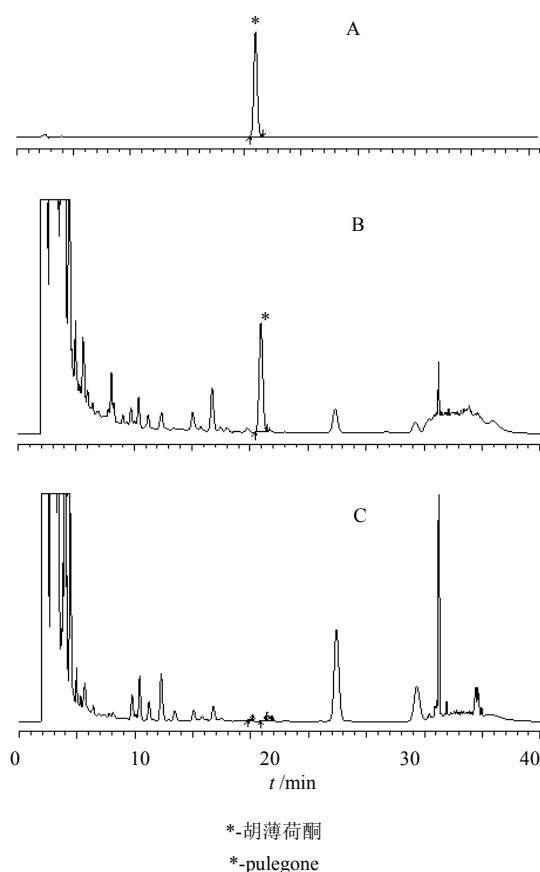


图1 胡薄荷酮对照品 (A)、六经头痛片 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of pulegone reference substance (A), Liujiang Toutong Tablets (B), and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备

取胡薄荷酮对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含胡薄荷酮 22 μg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取六经头痛片样品 20 片, 精密称定, 研细, 取

1.0 g, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 置水浴上加热回流 45 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按处方去除荆芥油外的各味药材, 按六经头痛片处方制得样品, 再按供试品溶液的制备方法制得阴性样品溶液。

2.5 标准曲线的制备

取胡薄荷酮对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.442 3、2.212 0、4.423 0、11.060 0、22.120 0、110.580 0 μg/mL 对照品溶液, 分别精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 按以上色谱条件分别测定峰面积。以对照品进样的质量为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 得回归方程 $Y=2\,939\,673.17X+1\,920.81$, $r=0.999\,9$ 。结果表明胡薄荷酮在 0.442 3~1 105.8 ng 与峰面积线性关系良好。

2.6 精密度试验

取批号 AII2354 六经头痛片样品 20 片, 研细, 取 1.0 g, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 测定胡薄荷酮峰面积, 计算得样品中胡薄荷酮峰面积的 RSD 值为 0.33%。

2.7 重复性试验

取批号 AII2354 六经头痛片样品 20 片, 研细, 取 1.0 g, 精密称定, 共 6 份, 分别精密加入甲醇 25 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得样品中胡薄荷酮质量分数为 105.8 μg/g, RSD 值为 1.41%。

2.8 稳定性试验

取批号 AII2354 六经头痛片样品 20 片, 研细, 取 1.0 g, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、18、24 h 进样测定, 结果样品中胡薄荷酮峰面积的 RSD 值为 0.97%。

2.9 回收率试验

取批号 AII2354 六经头痛片样品 20 片, 研细, 取 0.5 g, 精密称定, 共 6 份, 分别精密加入 2.212 μg/mL 胡薄荷酮对照品甲醇溶液 25 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果胡薄荷酮的平均回收率为 97.59%, RSD 值为 1.45%。

2.10 样品测定

取同一厂家 4 个不同批号的样品, 制备供试品溶液, 进样测定, 采用外标法计算样品中胡薄荷酮的质量分数, 结果见表 1。

表 1 六经头痛片中胡薄荷酮的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of pulegone in Liujiang Toutong Tablets ($n=3$)

批 号	胡薄荷酮($\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$)
AI12353	35.1
AI12354	36.0
0811238	88.1
0901246	56.0

3 讨论

3.1 提取溶剂及提取方法的选择

分别采用甲醇、90%甲醇、80%甲醇为提取溶剂,比较了加热回流、超声提取两种方法及不同的提取时间,结果以采用甲醇为提取溶剂,加热回流 45 min,样品中的胡薄荷酮的质量分数较高。

3.2 流动相的选择

分别采用甲醇-水(80:20)、乙腈-水(55:45)和乙腈-0.05%磷酸(45:55)为流动相进行试验^[2-4]。结果采用乙腈-0.05%磷酸(45:55)为流动相时,供试品色谱中胡薄荷酮色谱峰与其他杂质峰分离较好,且峰形对称,但是供试品色谱中的杂质较多,故以乙腈-0.05%磷酸水溶液进行梯度

洗脱。

3.3 不同色谱柱的比较

不同厂家生产的色谱柱(资生堂、菲罗门、安捷伦)采用乙腈-0.05%磷酸水溶液(45:55)为流动相,结果样品分离效果均较好。

对胡薄荷酮的测定曾参考相关文献报道^[5-6]采用 GC 进行了摸索,结果 GC 杂质峰较多,分离度较差,因此使用 HPLC 法进行测定,结果满意。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 217.
- [2] 束雅春, 秦昆明, 刘 晓, 等. HPLC 测定荆芥饮片煎煮过程中胡薄荷酮的含量变化 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 60-62.
- [3] 白 林, 郭兴道, 任 韩. HPLC 法同时测定感冒清热颗粒中葛根素与胡薄荷酮的含量 [J]. 中国药物应用与监测, 2013, 10(1): 17-20.
- [4] 张海英, 李 伟, 薛 洁. 维药新塔花中胡薄荷酮的鉴别及定量测定 [J]. 中成药, 2011, 33(9): 1628-1631.
- [5] 唐 彦, 桑旭峰. GC 法测定感冒清热颗粒中胡薄荷酮的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(7): 1283-1284.
- [6] 张 丽, 丁安伟, 施月芹. 荆芥穗挥发油中薄荷酮、胡薄荷酮的含量测定 [J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(1): 45-47.