

HPLC 法测定中疼片中欧前胡素

李 彬,任 荣,吴晓鹏*

(天津医科大学总医院,天津 300070)

中疼片系统中药复方制剂,主要由白芷、川芎、藁本等多味中药组成,具有止痛功效,主要用于头疼、牙痛等症。中疼片系院内制剂,没有质量控制标准。为提高药品质量,确保用药安全有效,本实验对方中君药白芷中有效成分欧前胡素采用 HPLC 法进行测定研究。结果证明该方法简便、准确、重现性好。

1 仪器与试剂

Waters2690 高效液相色谱仪,Waters996 检测器,Autoscience3120 超声波仪,UV—260 紫外-可见分光光度计(Shimadzu)。定性毛细管(美国 Drummond),AR2140 型电子分析天平(上海奥豪斯公司)。

欧前胡素对照品(批号:110826-200307,中国药品生物制品检定所),甲醇(分析纯、色谱纯),氯仿(分析纯),其他试剂均为分析纯。中疼片(每片 0.44 g,天津医科大学总医院)。

2 方法与结果

2.1 测定波长的确定:用 UV—260 型紫外分光光度计对欧前胡素对照品溶液在 200~400 nm 进行扫描。可以看出欧前胡素在 248.4 nm 处有一最大吸收峰,故选择 250 nm 为检测波长。

2.2 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(70:30);体积流量:1 mL/min;检测波长:250 nm;柱温:27℃。在此条件下,欧前胡素与其他组分均可达到基线分离,理论塔板数按欧前胡素峰计不低于 2 000。

2.3 处理方法的考察:欧前胡素为香豆素类成分。根据其性质及参考有关文献报道^[1],对提取方法、提取溶剂等进行优化。

2.3.1 提取溶剂的选择:取样品粉末约 2.38 g,精密称定,分别用甲醇、95%乙醇、氯仿作为提取溶剂,置 25 mL 量瓶中超声处理 30 min,用相应的溶剂定容,静置过夜,取上清液 10 mL,采用 HPLC 法测定。结果见表 1。可见,甲醇、氯仿提取较充分,但由于甲醇提取的杂质较多,给色谱柱效带来一定的

表 1 提取溶剂的选择结果

Table 1 Selecting results of extract solution

提取溶剂	欧前胡素/(mg·μL ⁻¹)
甲醇	0.031 7
95%乙醇	0.019 1
氯仿	0.031 2

影响,故选择氯仿为提取溶剂。

2.3.2 提取方法的选择:取样品 10 片,研细称定约 2.38 g,以氯仿为溶剂,分别用不同的提取方法进行提取。将提取液滤过并定容至 25 mL,取 10 mL 挥干,残渣用甲醇定容至 10 mL。结果见表 2。可见,样品超声提取 30 min,欧前胡素的提取效率较高,提示应采用超声提取 30 min 的方式来提取欧前胡素。

表 2 提取方法的选择结果

Table 2 Selecting results of extract method

提取方法	欧前胡素/(mg·μL ⁻¹)
放置过夜	0.017 9
超声提取 30 min	0.031 1
超声提取 60 min	0.031 2
热回流 1 h	0.031 0
热回流 2 h	0.029 9
热回流 3 h	0.029 8

2.4 对照品溶液的制备:精密称取欧前胡素对照品适量,置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,即得(欧前胡素的质量浓度为 114 μg/mL)。

2.5 供试品溶液的制备:取供试品 10 片,研细,取 2.0 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加氯仿至刻度,超声提取 30 min,放置至室温,用氯仿补足。滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,用微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。

2.6 阴性对照溶液的制备:取按处方比例及制备工艺制备不含白芷的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。结果欧前胡素在 12 min 左右无干扰。

2.7 标准曲线的制备:精密量取欧前胡素对照品溶液 1、1.5、2、2.5、3 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度。分别精密量取 20 μL,注入高效液相色谱仪。

以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标绘制标准曲线。结果表明,欧前胡素在 0.228~0.690 μg 与峰面积呈良好线性关系,回归方程为 $Y=80\,640\,X-16\,329$, $r=0.999\,9$ 。

2.8 精密度试验:精密量取欧前胡素对照品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,连续进样 5 次,按上述条件测定峰面积,结果欧前胡素峰面积 RSD=0.51% ($n=5$)。

2.9 稳定性考察:取供试品溶液在 0、2、4、6、8、10 h 测定,结果欧前胡素峰面积 RSD=0.66% ($n=6$)。表明,供试品溶液在制备 10 h 内稳定。

2.10 重现性试验:取同一批号样品,平行取样 5 份制备供试品溶液,进样 20 μL ,计算得欧前胡素峰面积的 RSD=1.98% ($n=5$)。

2.11 加样回收率试验:取同一批号(批号:20021205)样品 5 份,约 1.23 g,精密称定,加入 0.3 mg 欧前胡素对照品,制备供试品溶液,依法进行测定,结果平均回收率为 100.89%,RSD 为 1.32% ($n=5$)。

2.12 样品测定:将不同批号的样品制成供试品溶液,供试品及对照品溶液分别进样 20 μL 。记录峰面积,按外标法计算,结果见表 3。

表 3 中疼片中欧前胡素的测定结果 ($n=5$)
Table 3 Imperatorin in Zhongtengt Tablets ($n=5$)

批 号	欧前胡素/(mg·片 ⁻¹)	RSD/%
20020721	0.027 09	1.99
20021205	0.026 25	1.80
20030223	0.026 16	1.82

3 讨论

3.1 关于欧前胡素的测定方法有薄层扫描法、HPLC 法^[2]。本实验采用 HPLC 法测定,灵敏度高、分离度好,能起到控制本品内在质量的目的。

3.2 白芷的药理活性成分是香豆素类成分^[3],故采用极性低的有机溶剂提取。在实验中发现样品提取时间越长,测得欧前胡素呈下降趋势,可能是欧前胡素分子中酯键断裂所致,提示欧前胡素对热不稳定,提取时不宜长时间加热。

3.3 有关文献报道^[4]用乙腈-水(55:45)为流动相,通过实验发现用甲醇-水(70:30)为流动相,两者的分离效果基本一样。从经济方面考虑,选用甲醇、水为好。

3.4 制剂中测得的欧前胡素的量与白芷药材的投入量相符,说明本方法是可行的,能有效的控制产品的质量。

References:

- [1] Liang J M, Yang G D. Study on the solution of imperatorin in *Angelica dahurica* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22 (12): 829-831.
- [2] Yong J M, Hang Y Q, Yu C G. Study on *Radix Angelicae Dahuricae* V. Chemical constituents of *Radix Angelicae Dahuricae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1987, 18 (6): 2.
- [3] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1975.
- [4] Dai Y J, Li H Y, Xie C K. Study on quality control to harvest of *Angelica anomala* Lallemand [J]. *West China J Pharm Sci* (华西医药杂志), 1990, 5 (4): 241.

双清颗粒的提取工艺研究

安伟建,杨 萍,王文彬

(天津市医药科学研究所,天津 300070)

双清颗粒系由板蓝根、大青叶、葛根等中药制成,具清热、解毒、抗炎等作用,用于治疗病毒性感冒。为了保证药效和制剂工艺的合理性,本实验选择板蓝根中有效成分靛玉红和生药材总提取物收率作为考核指标,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选最佳提取工艺。

1 仪器与试剂

CS-9000 薄层扫描仪(日本岛津),微量进样器(美国 Drummond),高效硅胶 G 薄层板(青岛海洋

化工厂),靛玉红对照品(中国药品生物制品检定所);试剂均为分析纯,样品由本所实验药厂提供。

2 方法与结果

2.1 靛玉红的测定

2.1.1 薄层色谱条件:高效硅胶 G 薄层板,110 $^{\circ}\text{C}$ 活化 1 h;展开剂:苯-氯仿-丙酮(4:4:1),展开 8 cm,上行方式展开。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取靛玉红对照品