

HPLC 法测定元胡止痛片中欧前胡素和异欧前胡素

王洪志¹, 李惠芬^{2*}, 周 静², 郝兰芳²

(1. 天津市中西医结合急腹症研究所 药物研究室, 天津 300100; 2. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

元胡止痛片是由元胡和白芷两味药材组成, 具有理气、活血、止痛之功效, 用于治疗气滞血瘀的胃痛, 胁痛, 头痛和痛经等。白芷中香豆素成分欧前胡素和异欧前胡素具有抗菌、抗肿瘤等多种药理作用, 与药品质量有密切的关系。目前测定欧前胡素和异欧前胡素的方法多采用薄层色谱法^[1]和高效液相色谱法^[2], 且测定的成分单一。本实验采用 HPLC 法同时测定欧前胡素和异欧前胡素两种指标成分, 以制定制剂的质量控制标准。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪, Anas-tar 色谱工作站, 日本日立 U-3310 紫外分光光度计。

欧前胡素(批号 826-9401)、异欧前胡素(批号 0827-200105)对照品由中国药品生物制品检定所提供, 元胡止痛片由天津同仁堂股份有限公司提供, 甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其他均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack CLC-ODS (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(70 :

30), 测定波长: 300 nm, 体积流量: 1.0 mL/min, 柱温: 室温, 进样量: 10 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制: 分别精密称取欧前胡素、异欧前胡素对照品各 10 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。

2.2.2 供试品溶液的配制: 取元胡止痛片 10 片, 去包衣干燥, 研细精密称量, 称取 2.000 g 置 100 mL 碘量瓶中, 加入石油醚 20 mL 浸泡 24 h, 超声提取 40 min, 滤过, 回收石油醚至干。残渣用色谱纯甲醇溶解, 转移, 滤过, 置 10 mL 量瓶中, 加色谱纯甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的配制: 除去白芷后, 根据元胡止痛片处方、制备工艺及供试品溶液的配制方法制成阴性对照溶液。

2.3 阴性干扰试验: 吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL 进样, 记录色谱图。结果与供试品溶液色谱图比较, 阴性对照溶液在欧前胡素、异欧前胡素色谱峰位置无干扰峰。见图 1。

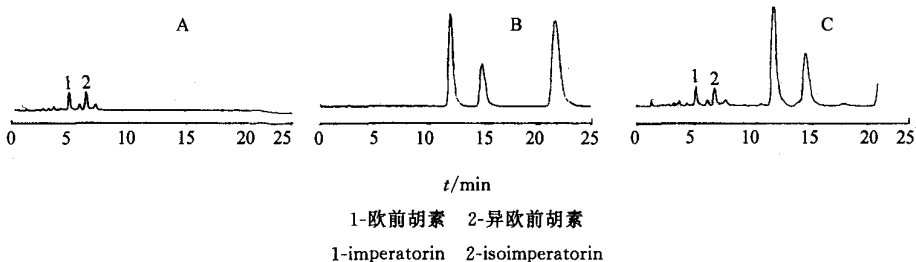


图 1 对照品(A)、阴性对照(B)和元胡止痛片(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A), negative sample (B), and Yuanhu Zhitong Tablets (C)

2.4 标准曲线及线性范围: 将欧前胡素和异欧前胡素对照品溶液等体积混合, 然后精密吸取 3、6、9、12、15、18 μL, 进样测定峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程。欧前胡素: $Y = 843\,399 X + 3\,626.8$, $r = 0.999\,3$; 异欧前胡素: $Y = 1 \times 10^6 X - 163\,426$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明欧前胡素和异欧前胡素在 0.217 ~ 1.304 μg、0.600 ~

3.600 μg 时, 峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次 10 μL, 测定峰面积积分值, 计算得欧前胡素峰面积的 RSD 为 1.12%, 异欧前胡素峰面积的 RSD 为 0.94%。

2.6 重现性试验: 取批号 030906 的元胡止痛片 2.000 g, 共 6 份。制备供试品溶液, 每次进样 10 μL,

收稿日期: 2006-11-16

作者简介: 王洪志(1965—), 男, 天津人, 副主任药师, 研究方向为天然药物制剂。

* 通讯作者 李惠芬 Tel: (022)23529243 E-mail: lihuifen@tjmu.edu.cn

测定,计算得样品中欧前胡素和异欧前胡素的平均质量分数为 0.27、0.34 mg/g,其 RSD 分别为 0.20%、0.42%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液每隔 2 h 进样 1 次,每次进样 10 μ L,共进样 6 次,测定峰面积积分值,计算得欧前胡素峰面积的 RSD 为 0.31%,异欧前胡素峰面积的 RSD 为 1.18%,表明 10 h 内供试品溶液的稳定性良好。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。取批号 030906 元胡止痛片 2.000 g,共 6 份,分别加入 0.4 mg/mL 欧前胡素和异欧前胡素对照品溶液 1 mL,制备供试品溶液,进样 10 μ L,测定,计算回收率。结果欧前胡素的平均回收率为 99.5%,RSD 为 1.79%,异欧前胡素的平均回收率为 99.9%,RSD 为 1.77%。

2.9 样品测定:取元胡止痛片,每批次各 3 份,制备供试品溶液,进样 10 μ L,测定欧前胡素和异欧前胡素的峰面积,采用外标法计算样品中两者的质量分数,结果见表 1。

表 1 元胡止痛片中欧前胡素和异欧前胡素的测定结果

Table 1 Determination of imperatorin and isoimperatorin in Yuanhu Zhitong Tablets

批号	欧前胡素/ (mg · g ⁻¹)	RSD/%	异欧前胡素/ (mg · g ⁻¹)	RSD/%
030906	0.27	0.21	0.34	0.29
030907	0.29	0.85	0.32	1.11
030908	0.30	0.19	0.31	0.32

3 讨论

经日立 U—3310 分光光度计紫外区域内扫描,发现欧前胡素和异欧前胡素在 300 nm 波长处有最大吸收,故本实验选用的检测波长为 300 nm。

由于白芷的有效成分欧前胡素和异欧前胡素的

极性较小,采用正相高效液相色谱法,流动相选用非极性溶剂时,对高压泵垫的腐蚀较大,且条件苛刻,因此本实验采用反相色谱法,以甲醇-水(70:30)为流动相,能有效克服以上缺点,且操作更简便,灵敏度也高。

在优化色谱条件过程中,甲醇与水的配比分别采用 75:25、70:30、68:32,结果发现 75:25 时氧化前胡素峰与欧前胡素峰部分重叠^[3],68:32 时目标峰的保留时间过长,只有当 70:30 时,欧前胡素色谱峰与异欧前胡素的色谱峰保留时间恰当,峰形也好。

供试品溶液的配制中超声处理时,进行了 20、30、40、50 min 提取,结果发现提取 40 min 时有效成分的量最高。

实验中发现欧前胡素对照品的 HPLC 色谱峰不是单一峰,而是氧化前胡素和欧前胡素的混和物。对欧前胡素的定量只能通过两者峰面积积分值之比计算出所称对照品中欧前胡素所占的质量比,以此进行计算,或需采用制备高效液相色谱重新制备欧前胡素对照品,分得单一峰,按例行方法计算。不过需新鲜配制,现用现配。本实验选用前一种方法计算。

References:

- [1] Wan X H, Yang X, Cao Y. Determination of imperatorin in Erzhi Pills by TLC [J]. *Gansu Pharm J* (甘肃药学), 2000, (2): 31-32.
- [2] Zhang X J, Su W B, Yin X F, et al. Determination of imperatorin in Qianzhi Capsules by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(9): 722-723.
- [3] Wei Y, Ito Y. Preparative isolation of imperatorin, oxypeucedanin and isoimperatorin from traditional Chinese herb "baizhi" *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth. et Hook using multidimensional high-speed counter-current chromatography [J]. *Chromatogr A*, 2006, 1115(1-2): 112-117.

高效液相色谱法测定骨仙片中柚皮苷

李玉份,林月英

(天津市大港区药品检验所,天津 300270)

骨仙片是由骨碎补、熟地黄、黑豆、女贞子等 9 味药材制成的中药制剂,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 4 册。但原标准仅有一般鉴别和检查项,缺乏定量检测方法。骨仙片具有填精益髓、壮腰健肾、强壮筋骨、舒筋活络、养血止痛的

功效,其君药为骨碎补。结合骨仙片制备工艺主要是水提取,骨碎补主要是以柚皮苷为主的水溶性成分,本研究建立了骨仙片中柚皮苷的 HPLC 测定方法。

1 仪器与试剂

岛津 LC—2010AHT 高效液相色谱仪,LC—