

本品中毛蕊花糖苷时发现比较大的干扰。试验了甲醇-乙腈-1%乙酸(13:10:77, 11:9:80, 15:10:75)、甲醇-0.1%甲酸(28:72, 35:65)流动相,以及 Kromasil-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和 Ultimate-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,结果均不能使干扰峰与毛蕊花糖苷的峰分开。而检测松果菊苷时没有发现明显干扰峰。所以选择松果菊苷作为测定成分。

松果菊苷对照品试过用甲醇溶解,注入色谱仪后,在其色谱峰前会有一个大包峰且峰面积与进样量

不呈线性。改用流动相溶解后,一切正常。松果菊苷和毛蕊花糖苷同为苯乙醇苷类化合物,有文献报道毛蕊花糖苷在甲醇中不稳定而在微酸性溶液中能保持稳定^[1]。试验结果表明,松果菊苷也有相同性质。

有文献报道检测松果菊苷用波长 330 nm^[2],但是经试验发现,其最大吸收波长在 334 nm。并且使用 334 nm 检测本品时,并没有发现明显干扰峰。

参考文献:

[1] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.

[2] 中国药典[S]. 一部. 2005.

RP-HPLC 法测定散风止痛丸中欧前胡素

王蔚*

(广州中一药业有限公司,广东 广州 510130)

摘要:目的 建立散风止痛丸中欧前胡素的 HPLC 测定方法。方法 色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(52:48);检测波长为 250 nm;体积流量为 1.0 mL/min;柱温为室温;进样量为 10 μL。结果 欧前胡素在 1.648~26.368 μg/mL 与其峰面积呈良好的线性关系,平均加样回收率为 98.1%,RSD 为 1.6%(n=6)。结论 该方法灵敏、准确、快速、专属性强,可用于散风止痛丸中欧前胡素的测定。

关键词:散风止痛丸;欧前胡素;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)08-1252-02

散风止痛丸由制白附子、白芷、白术、茯苓、益母草、甘草等组成,具有祛湿通窍、活血消肿之功效,用于头痛、疮疡肿痛等。白芷为散风止痛丸中主药之一,其主要成分为香豆素类。故本实验以欧前胡素作为质量标准评价指标,建立散风止痛丸中欧前胡素的高效液相色谱测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent1100 系列高效液相色谱仪(DAD 检测器,自动进样器),华南超声波清洗器(功率 250 W,频率 45 Hz)。

欧前胡素对照品(批号 110826-200511,中国药品生物制品检定所),乙腈(Merck,色谱纯);甲醇、丙酮等均为分析纯;纯化水。散风止痛丸由本公司提供。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择:用 DAD 检测器检测得到欧前胡素光谱图,在约 220、250、300 nm 处有吸收。如选择 220 nm,因波长较短,干扰较大;如选择 300 nm,则

响应值较小,故选择 250 nm 为测定波长。

2.2 流动相的选择:参照《中国药典》2005 年版一部白芷项下测定方法中所用流动相时,欧前胡素的色谱峰有杂质峰干扰。经过对流动相比比例的比较,确定以乙腈-水(52:48)为流动相。结果供试品溶液中欧前胡素峰可以达到基线分离,峰形对称,保留时间适中(8.676 min),分离度大于 1.5,理论板数为 13 531。

2.3 色谱条件^[1,2]:色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(52:48);检测波长为 250 nm;体积流量为 1.0 mL/min;柱温为室温;进样量为 10 μL。理论板数按欧前胡素峰计算应不低于 3 000。色谱图见图 1。

2.4 峰质量分数的检查:分别精密吸取欧前胡素对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,测定,并用二极管阵列检测器(DAD)在 220~400 nm 波长扫描,检查峰的质量分数。结果供试品溶液中被测峰的质量分数因子比阈值 970.000 大,表明该峰为纯物质峰。

* 收稿日期:2009-02-31

作者简介:王蔚 E-mail: fzfz03@yahoo.com.cn

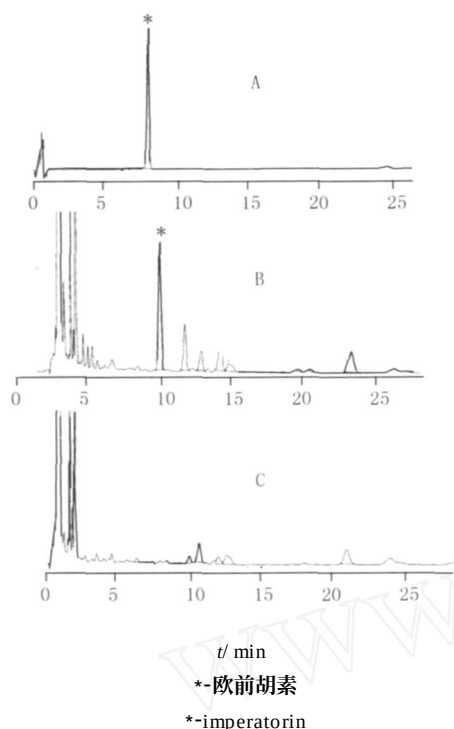


图1 欧前胡素对照品(A)、散风止痛丸(B)和阴性样品(C)的HPLC色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of imperatorin reference substance (A), Sanfeng Zhitong Pill (B), and negative sample (C)

2.5 供试品溶液的制备:取本品1.5 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,超声处理(功率250 W,频率45 kHz)1 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液5 mL,加于中性氧化铝柱(100~200目,5 g,内径9 mm)上,用丙酮10 mL洗脱,收集流出液与洗脱液,室温挥发至约1 mL,加甲醇转移至5 mL量瓶中,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.6 线性关系考察:精密吸取82.4 $\mu\text{g/mL}$ 欧前胡素对照品溶液1、1.2、4、6、8 mL,分别置50、25、25、25、25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过。精密吸取溶液各10 μL ,注入液相色谱仪,测定。以质量浓度为横坐标,测得的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A = 48508.68845C + 2.2133836$,

$r = 0.99997$ 。结果表明,欧前胡素在1.648~26.368 $\mu\text{g/mL}$ 与其峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验:取同一供试品溶液(批号08041)重复进样6次,每次5 μL ,分别测定欧前胡素峰面积,结果其RSD为1.3%。

2.8 稳定性试验:取同一供试品溶液(批号08041),分别于0、2、4、8、16、24 h测定欧前胡素峰面积,结果RSD为0.6%。结果表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.9 重现性试验:取批号08041散风止痛丸样品6份,制备供试品溶液,进样测定,结果欧前胡素含平均质量分数为0.068 mg/g, RSD为0.8%。

2.10 加样回收率试验:取批号08041散风止痛丸样品(含欧前胡素0.068 mg/g)6份,取样约0.75 g,分别精密加入51.0 $\mu\text{g/mL}$ 欧前胡素对照品溶液1.0 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算欧前胡素的回收率,结果平均回收率为98.1%, RSD为1.6%。

2.11 样品测定:取3批散风止痛丸样品,制备供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液和欧前胡素对照品溶液各10 μL ,进样,记录色谱图,测定峰面积,计算,结果见表1。

表1 散风止痛丸中欧前胡素的测定结果($n=2$)

Table 1 Determination of imperatorin in Sanfeng Zhitong Pill ($n=2$)

批号	欧前胡素/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
08041	0.068
08082	0.072
07021	0.069

3 讨论

在供试品溶液制备时,发现洗脱液完全挥干后再加甲醇溶解并定容,欧前胡素明显降低,可能因欧前胡素属香豆素类成分,有挥发性,所以规定洗脱液挥发至约1 mL,以阻止其挥发。

参考文献:

- [1] 王洪志,李惠芬,周静,等. HPLC法测定元胡止痛片中欧前胡素和异欧前胡素[J]. 中草药, 2007, 38(7): 1018-1019.
- [2] 张何,史公良,张景云,等. 鼻通喷雾剂的质量标准研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1495-1497.