

HPLC法测定利鼻片中欧前胡素的含量

张建方^{1*}, 黄健², 叶优苗³(1.绍兴市第七人民医院, 浙江绍兴 312000; 2.新昌县人民医院, 浙江新昌 312500; 3.嵊泗县人民医院, 浙江嵊泗 202450)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)12-1135-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.12.29

摘要 目的:建立测定利鼻片中欧前胡素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Zorbax SB-C₁₈柱,流动相为甲醇-水(62:38, V/V),检测波长为300 nm,柱温为35 ℃,流速为1.0 ml/min,进样量为5 μl。结果:欧前胡素进样量在0.010 75~0.268 8 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$);平均回收率为97.63%,RSD=1.35%($n=6$)。结论:本方法操作简便,结果准确,专属性强,重复性好,可用于利鼻片中欧前胡素的含量测定。

关键词 利鼻片;欧前胡素;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Imperatorin in Libi Tablet by HPLC

ZHANG Jian-fang¹, HUANG Jian², YE You-miao³(1. Shaoxing Municipal Seventh People's Hospital, Zhejiang Shaoxing 312000, China; 2. Xinchang County People's Hospital, Zhejiang Xinchang 312500, China; 3. Shengsi County People's Hospital, Zhejiang Shengsi 202450, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of imperatorin in Libi tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Zorbax SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (62:38) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 300 nm and column temperature was 35 ℃. The injection volume was 5 μl. RESULTS: The linear range of imperatorin was 0.010 75-0.268 8 μg ($r=0.999\ 8$) with an average recovery of 97.63% (RSD=1.35%, $n=6$). CONCLUSION: The method is simple, accurate and specific with good reproducibility, and it can be used for the content determination of imperatorin in Libi tablets.

KEY WORDS Libi tablets; Imperatorin; HPLC; Content determination

利鼻片收载于《中国药典》2010年版(一部)中,由蒲公英、黄芩、苍耳子、白芷等7味中药组成,具有清热解毒、祛风开窍之功,用于风热蕴肺所致的伤风鼻塞、鼻渊、鼻涕或涕涕^[1]。方中重用蒲公英,味苦甘而气寒,为君药,佐以白芷祛风湿、通窍、活血排脓,共奏清热解毒、通散鼻窍之效^[2],临床主要用于治疗感冒头痛、眉棱骨痛、鼻塞、鼻渊等症^[3]。药典标准中只收载了该制剂中黄芩苷的含量测定方法,查阅相关文献,也仅见其中黄芩苷和绿原酸含量测定的报道^[4-6],未见有对白芷所含有效成分欧前胡素含量测定的文献资料。本文中,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法建立了利鼻片中欧前胡素的含量测定方法,本法操作简便,专属性强,重复性好,可为更有效地控制该制剂的质量提供参考依据。

1 材料

Agilent 1200型HPLC仪(美国安捷伦公司);XS105DU型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);DSA300型超声波清洗机(福州德森精工有限公司)。

欧前胡素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110826-200511,供含量测定用);利鼻片(长春银诺克药业有限公司,批号:20080601、20090507、20090914);甲醇(德国默克公司,色谱纯);其余试剂为分析纯,水为纯净水。

*主管中药师,本科。研究方向:中药调配、中成药质量控制、药用植物野外资源调查。电话:0575-85397966。E-mail: sxqyzjf@tom.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Zorbax SB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(62:38, V/V);检测波长:300 nm^[11,12];柱温:35 ℃;流速:1.0 ml/min;进样量:5 μl。理论板数按欧前胡素峰计算应大于3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 称取欧前胡素对照品0.010 75 g,置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量,研细,称取约2 g,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40 min,取出放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取处方中除白芷外的另6味药材按制法制成阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制备,即得。

取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,结果在欧前胡素对照品峰相应的位置未见其他的干扰峰。色谱详见图1。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液2 ml,置于20 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,再分别精密吸取该溶液1、2、5、10、15、25 μl,注入HPLC仪(每份重复进样2次),按“2.1”项下色谱条件进样测定。以欧前胡素峰面积为纵坐标(y),进样量为横坐标(x),进行线性回归,得回归方程 $y=2\ 957x+4.973\ 8$

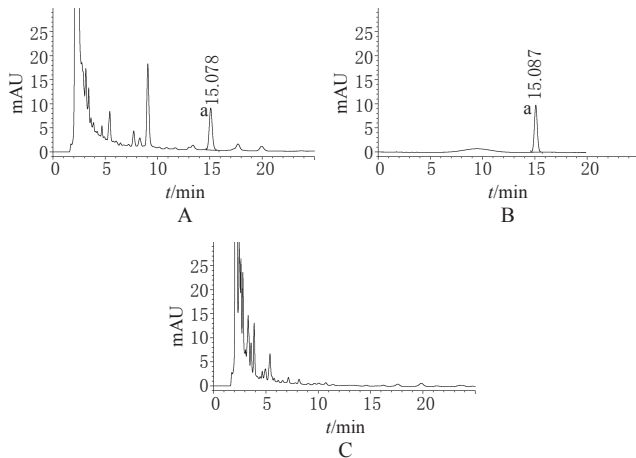


图1 高效液相色谱图

A. 供试品; B. 对照品; C. 阴性对照; a. 欧前胡素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. test samples; B. substance control; C. negative control; a. imperatorin

($r=0.9998$)。结果表明,欧前胡素进样量在 $0.01075\sim 0.2688\mu\text{g}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

分别精密吸取“2.3”项下经处理的对照品溶液 $5\mu\text{l}$,重复进样6次。结果,其峰面积的 $\text{RSD}=0.61\%$,表明本方法精密度良好。

2.5 重复性试验

分别称取同一批样品适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液并测定含量。结果,含量的 $\text{RSD}=2.02\%$,表明本方法重复性良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液适量,于制备后2、4、8、12、24、32h分别进样 $5\mu\text{l}$ 。结果,峰面积的 $\text{RSD}=1.73\%$,表明供试品溶液在32h内质量稳定。

2.7 加样回收率试验

精密称取批号为20090914的样品(含欧前胡素 $79\mu\text{g/g}$)适量,共6份,置于具塞锥形瓶中,分别精密加入甲醇 25ml ,称定质量,再分别精密加入“2.2.1”项下对照品溶液 0.5 、 0.5 、 0.8 、 0.8 、 1.0 、 1.0ml ,超声处理 40min ,取出放冷,再用甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,按“2.1”项下色谱条件测定含量,计算样品加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Result of recovery tests($n=6$)

取样量, g	所含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1.0544	83.30	53.75	134.52	95.30		
1.1270	89.03	53.75	142.06	98.65		
1.0749	84.92	86.00	170.11	99.06		
1.0983	86.77	86.00	170.95	97.89	97.63	1.35
1.1499	90.84	107.50	195.42	97.28		
1.1107	87.75	107.50	192.69	97.62		

2.8 样品含量测定

3批样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,以峰面积计算欧前胡素的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=4$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=4$)

批号	含欧前胡素的量, $\mu\text{g/g}$
20080601	85.2
20090507	103.4
20090914	79.0

3 讨论

3.1 本研究的价值

利鼻片药典标准中记载了黄芩苷的含量测定方法,除此外查阅文献也只发现仅有对其中心绿原酸含量测定的报道,而中医理论讲究的是整体协同作用,讲究“君臣佐使”。为此,本研究建立了利鼻片中佐药白芷所含有效成分欧前胡素的含量测定方法。本法简便易行,精密度好,可为研究制订该制剂的多指标成分定量标准提供参考。

3.2 流动相的选择

笔者曾选用甲醇-水系统的不同比例进行分离比较,试用了岛津、菲罗门、安捷伦等不同品牌的 C_{18} 柱。结果,发现选用甲醇-水($62:38, V/V$)可得到较好的分离度、对称的峰形及高理论板数,且保留时间适中,故最终采用了该流动相。

3.3 提取方法的选择

欧前胡素是一种线型呋喃香豆素类化合物,存在于白芷、欧前胡等多种中药中,具有扩张血管的作用^[8]。笔者曾用甲醇、乙醇作为提取溶剂进行加热回流及超声处理的比较试验;又因欧前胡素易溶于三氯甲烷^[9],故又曾采用三氯甲烷加热回流提取去除部分水溶性杂质后蒸干三氯甲烷,之后再用甲醇溶解加热回流提取方法与之前的方法作比较。结果,三氯甲烷-甲醇系统提取比本文方法少了部分杂质峰,但提取烦琐,溶剂毒性大。而本文采用的甲醇超声提取方法所用溶剂少,效率高,操作简便,有利于环保,故采用之。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:518-519.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:临床用药须知:中药成方制剂卷[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2011:138.
- [3] 徐术, 胡晋红, 全山丛. 白芷的活性成分研究与临床应用进展[J]. 中国药房, 2005, 16(6):467.
- [4] 熊灿琼, 陈晓玲. 利鼻片质量标准研究[J]. 中国药业, 2011, 20(10):34.
- [5] 俞秀. RP-HPLC法测定利鼻片中绿原酸的含量[J]. 海峡药学, 2011, 23(2):46.
- [6] 徐冬, 汪涛, 张杰. RP-HPLC法测定利鼻片中黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2010, 13(2):256.
- [7] 樊萍, 孙宁, 刘冰, 等. HPLC法测定白芷酊中欧前胡素的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(23):2178.
- [8] 刘笑笑, 曹蔚, 王四旺. 欧前胡素的提取分离方法和药理学研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010, 20(10):3954.
- [9] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[M]. 北京:人民卫生出版社, 1986:739.

(收稿日期:2012-04-08 修回日期:2012-12-28)