

高效液相色谱法测定风湿定胶囊中 欧前胡素和异欧前胡素的含量

戚继红*, 岳莉, 沈伟

(安徽省淮北市食品药品检验所, 安徽 淮北 235000)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定风湿定胶囊中欧前胡素和异欧前胡素的含量。方法: Waters e2695 HPLC 色谱系统(Empower Waters 工作站, Waters 2489 UV/visible Detector 检测器, Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 柱温 25 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 流动相甲醇-水(62:38), 检测波长 254 nm, 进样量 20 μL。结果: 欧前胡素在 1.064 ~ 31.92 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系($r=0.9997$), 异欧前胡素在 1.090 ~ 32.70 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系($r=0.9993$)。欧前胡素的平均加样回收率 100.2% ($n=9$), RSD 1.47%, 异欧前胡素的平均加样回收率为 100.0% ($n=9$), RSD 1.64%。结论: 该方法操作简便、准确、稳定、灵敏度高, 适用于风湿定胶囊中欧前胡素和异欧前胡素的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 风湿定胶囊; 欧前胡素和异欧前胡素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0093-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014080093

Determination of Imperatorin and Isoimperatorin in Fengshiding Capsule by HPLC

QI Ji-hong*, YUE Li, SHEN Wei

(Huabei Institute for Food and Drug Control of Anhui Province, Huabei 235000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method for determination of the content of imperatorin and isoimperatorin in Fengshiding capsule. **Method:** Hypersil ODS2 column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used. The methanol-water (62:38) was used as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength was set at 254 nm. The column temperature was set at room temperature. The injection volume was 20 μL. **Result:** The linear range of imperatorin was 1.064-31.92 mg·L⁻¹ ($r=0.9997$). The linear range of isoimperatorin was 1.090-32.70 mg·L⁻¹ ($r=0.9993$). The average recovery of imperatorin was 100.2% ($n=9$), RSD 1.47%. The average recovery of isoimperatorin was 100.0% ($n=9$), RSD 1.64%. **Conclusion:** The method is simple, sensitive, and accurate for the quality control of Fengshiding capsule.

[Key words] HPLC; Fengshiding capsule; imperatorin and isoimperatorin

风湿定胶囊主要由八角枫、白芷、徐长卿、甘草组成, 具有活血通络、除痹止痛的功效, 临床用于风湿性关节炎、类风湿性关节炎、颈肋神经痛、坐骨神经痛等症^[1]。收载于国家食品药品监督管理局标准(试行)YBZ08362006^[2]。白芷是该制剂的主要成分之一, 标准中未对白芷的主要成分欧前胡素和异

欧前胡素进行含量测定, 虽有风湿定胶囊质量标准研究的文献报道, 但基本上都是测定欧前胡素的含量, 未有对二者同时进行含量测定的相关研究。本文采用高效液相色谱法同时测定风湿定胶囊中欧前胡素和异欧前胡素的含量, 适用于风湿定胶囊的质量控制。

1 材料

Waters e2695 HPLC 色谱系统(Empower Waters 工作站, Waters 2489 UV/visible Detector 检测器), JAC-300 型超声波处理器(济宁奥波超声电气有限公司)

[收稿日期] 20130301(006)

[通讯作者] *戚继红, 副主任药师, 从事药品检验工作, Tel: 18056128570, E-mail: qjihong1972@163.com

司),Mettler AE-240型电子分析天平(0.1,0.01 mg)。

欧前胡素(批号110826-200511)和异欧前胡素(批号110827-201008)对照品购自中国药品生物制品检定所,风湿定胶囊(吉林百姓堂药业有限公司,批号20111101,20120511,20120525,20120630),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

2.1.1 色谱条件 Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(62:38),流速1.0 mL·min⁻¹,柱温25℃,进样量20 μL,检测波长254 nm^[3]。

2.1.2 系统适用性 在供试品色谱图中,欧前胡素和异欧前胡素的理论板数均>2 500,各峰与相邻峰之间的分离度分别为2.8,5.5,将对照品重复进样6次,欧前胡素峰面积的RSD 0.34%,异欧前胡素峰面积RSD 0.15%,表明系统适用性试验各项参数均能达到要求。

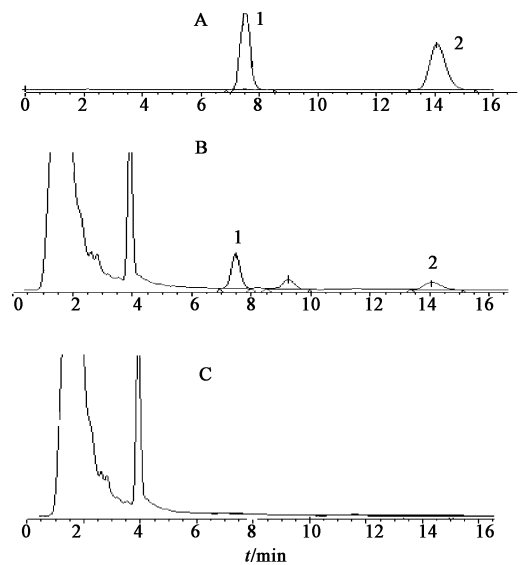
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 分别精密称取欧前胡素对照品5.32 mg(置五氧化二磷减压干燥14 h),异欧前胡素对照品5.48 mg(置五氧化二磷减压干燥14 h),置100 mL量瓶中,用75%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品储备液^[4]。

2.2.2 供试品溶液 取本品装量差异项下的内容物约1.5 g,精密称定,置25 mL具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇25 mL,密塞,称定质量,置超声仪中超声30 min,放冷至室温,再称定质量,用75%甲醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,用0.45 μm滤膜过滤,即得供试品溶液^[5-6]。

2.2.3 样品阴性对照溶液 按胶囊处方,称取除白芷的粉末1.5 g,按供试品制备方法制备阴性对照溶液。在供试品色谱图中,与对照品色谱相应的位置上有着相同保留时间的色谱峰,而阴性溶液在此保留时间无色谱峰出现,表明没有其他成分干扰峰(图1)。

2.3 线性关系的考察 分别精密量取对照品储备液1.0,2.0,4.0,6.0,10.0,20.0,30.0 mL置50 mL量瓶中,加75%甲醇稀释至刻度,按上述色谱条件,精密量取20 μL注入液相色谱仪,记录色谱图(见图1A),以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标(mg·L⁻¹),进行线性回归分析,得回归方程 $Y_{\text{欧前胡素}} = 78\,381.104\,2X - 9\,209.589\,3$ ($r = 0.999\,7$),在1.064~31.92 mg·L⁻¹具有良好的线性关系; $Y_{\text{异欧前胡素}} = 72\,600.889\,2X -$



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;
1. 欧前胡素;2. 异欧前胡素

图1 风湿定胶囊 HPLC

14 382.535 9($r = 0.999\,3$),在1.090~32.70 mg·L⁻¹具有良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取对照品溶液,连续进样6次,每次2针,欧前胡素峰面积平均值为777 400,779 900,784 500,783 000,778 500,780 300,RSD 0.34%;异欧前胡素峰面积平均值为704 700,706 100,705 700,703 800,703 700,705 700,RSD 0.15%。表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取样品测定项下的供试品溶液(批号20111101)在0,2,4,8,12,16,24 h分别进样2针测试,记录色谱图,结果欧前胡素峰面积平均值RSD 1.21%,异欧前胡素峰面积平均值RSD 1.34%,表明本品在24 h稳定性良好。

2.6 重复性试验 取同一批号的样品(批号20111101)6份,各测定2次,照样品测定项下方法测定,计算含量,欧前胡素的平均含量为标示量的0.217 8 mg·g⁻¹,RSD 0.94%;异欧前胡素的平均含量为标示量的0.092 0 mg·g⁻¹,RSD 1.84%,表明方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(批号20111101)0.735 9,0.735 8,0.739 4,0.736 1,0.723 9,0.723 6,0.791 5,0.794 8,0.790 4 g,置具塞锥形瓶中,共9份,分成3组,每组分别精密加入含欧前胡素32.6 mg·L⁻¹、含异欧前胡素13.5 mg·L⁻¹的对照品液4.0,5.0,6.0 mL,照2.2.2制备方法得加样回收率试验溶液,精密量取20 μL注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,结果欧前胡素平均回收率为

100.2%, RSD 1.47%, 异欧前胡素平均回收率为100.0%, RSD 1.64%。结果见表1。

2.8 样品的测定 取本品3批(批号20120511,

20120525, 20120630), 各取2份, 精密称取适量, 置具塞锥形瓶中, 照**2.2.2**制备方法得供试品溶液。精密量取20 μL 注入液相色谱仪, 计算含量, 结果见表2。

表1 欧前胡素、异欧前胡素加样回收率

No.	样品量/ μg		加入量/ μg		测得量/ μg		回收率/%		平均值/%		RSD/%	
	欧前胡素	异欧前胡素	欧前胡素	异欧前胡素	欧前胡素	异欧前胡素	欧前胡素	异欧前胡素	欧前胡素	异欧前胡素	欧前胡素	异欧前胡素
1-1	6.411 4	2.708 2	5.216 0	2.160 0	11.546 3	4.867 0	98.44	99.94				
1-2	6.410 3	2.707 7	5.216 0	2.160 0	11.551 4	4.865 4	98.56	99.89				
1-3	6.441 7	2.721 0	5.216 0	2.160 0	11.629 2	4.864 7	99.45	99.25				
2-1	6.413 3	2.709 0	6.520 0	2.700 0	12.933 1	5.421 4	100.00	100.46				
2-2	6.306 7	2.664 0	6.520 0	2.700 0	12.800 4	5.431 4	99.60	102.50	100.2	100.0	1.47	1.64
2-3	6.304 3	2.663 0	6.520 0	2.700 0	12.913 9	5.407 0	101.37	101.63				
3-1	6.895 2	2.912 6	7.824 0	3.240 0	14.912 5	6.054 0	102.47	96.96				
3-2	6.924 3	2.924 9	7.824 0	3.240 0	14.910 6	6.120 0	102.07	98.62				
3-3	6.886 0	2.908 7	7.824 0	3.240 0	14.661 8	6.174 0	99.38	97.70				

表2 风湿定胶囊样品中欧前胡素、异欧前胡素含量测定

批号	称样量/g	异欧前胡素	欧前胡素
		/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
20120511	1.460 5	0.235 9	0.205 7
	1.460 2	0.223 5	0.207 8
20120525	1.674 8	0.247 3	0.217 9
	1.584 6	0.250 7	0.218 6
20120630	1.490 4	0.206 0	0.170 6
	1.500 1	0.205 0	0.185 0

3 讨论

3.1 溶剂的选择 白芷有效成分的提取溶剂75%甲醇, 甲醇, 95%乙醇^[7-8]70%乙醇。利用75%甲醇作为溶剂, 能达到满意的效果。

3.2 样品提取方法的选择 分别选用75%甲醇回流提取、75%甲醇超声等方法, 结果75%甲醇超声提取操作简便, 所测成分吸收峰附近无干扰。故选用75%甲醇超声提取。

3.3 超声时间的选择 处理时间45, 30, 15 min, 结果30 min即可达到满意效果。

3.4 测定波长的选择 欧前胡素和异欧前胡素的测定波长有300, 254, 248 nm, 同一对照品溶液分别在300, 254, 248 nm测定, 结果在254 nm测定时欧前胡素和异欧前胡素的峰面积及峰高值均较大, 故本文选择254 nm为测定波长。

3.5 柱温的选择 通过试验比较柱温的影响, 常温, 30, 25 $^{\circ}\text{C}$, 结果表明温度对结果没有显著性差异, 但25 $^{\circ}\text{C}$ 柱温测定时精密度更好, 所以本试验选

定25 $^{\circ}\text{C}$ 柱温。

3.6 流动相的选择 在供试品图谱中, 欧前胡素和异欧前胡素之间还有别的组分, 通过调节甲醇-水的比例, 可以将欧前胡素和异欧前胡素与其他相邻的色谱峰达到完全分离。本文采用甲醇-水(62:38)为流动相, Hypersil ODS2(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm)色谱柱, 得到满意的效果。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 433.
- [2] 国家食品药品监督管理局标准(试行)YBZ08362006
- [3] 张慧, 海广泛, 尹志奎, 等. 高效液相色谱法测定不同产地白芷中欧前胡素和异欧前胡素含量[J]. 新乡医学院学报, 2009, 26(2): 138.
- [4] 肖永庆, 李丽, 游小淋, 等. 白芷质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(7): 467.
- [5] 蒋剑, 田立江, 赵新. 复方白芷乳膏中欧前胡素的高效液相色谱法测定[J]. 新疆中医药, 2005, 23(3): 9.
- [6] 田静, 尹萌, 闻琰, 等. 风湿定胶囊质量标准的研究[J]. 中国药品标准, 2008, 9(4): 273.
- [7] 郑立红, 李卫敏, 陈志峰, 等. 不同产地白芷中欧前胡素的含量测定[J]. 世界中医药, 2012, 7(1): 79.
- [8] 胡华杰, 楼招欢, 吕圭源, 等. HPLC测定不同产地白芷饮片中欧前胡素和异欧前胡素的含量[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(3): 418.

[责任编辑 顾雪竹]