

超高效液相色谱法测定白芷配方颗粒中 欧前胡素和异欧前胡素的含量

毕晓黎^{1,2*}, 罗文汇¹, 胥爱丽¹, 谭志灿²

(1. 广东省中医研究所, 广州 510095; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] 目的: 建立同时测定白芷配方颗粒中欧前胡素和异欧前胡素的超高效液相方法。方法: 采用超高效液相色谱法, Thermo Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm)柱, 流动相甲醇-水(55:45), 流速 0.2 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 300 nm。结果: 欧前胡素在 7.8 ~ 70.2 ng 呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 98.82%, RSD 1.25%; 异欧前胡素在 5.04 ~ 45.36 ng 呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 100.14%, RSD 1.16%。结论: 以建立的方法简便准确、快速、重复性好, 可作为有效的方法对白芷配方颗粒中所含欧前胡素和异欧前胡素进行含量测定。

[关键词] 白芷配方颗粒; 超高效液相色谱; 欧前胡素; 异欧前胡素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0140-03

Determination of Imperatorin and Isoimperatorin in Angelicae Dahurica Radix Formula Granules by UPLC

BI Xiao-li^{1,2*}, LUO Wen-hui¹, XU Ai-li¹, TAN Zhi-can²

(1. Guangdong Province Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;
2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of imperatorin and isoimperatorin in Angelicae Dahurica by UPLC. **Method:** The content of Imperatorin and isoimperatorin was determined with UPLC in this preparation. The Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm) column was used. The mobile phase consisted of methanol-water (55:45) solution. The flow rate was 0.2 mL·min⁻¹ and column temperature was at 30 °C. The detecting wave length was at 300 nm. **Result:** The two components had a good linearity relationship between 7.8-70.2 ng; 5.04-45.36 ng. The average recoveries ($n=6$) were 98.82% (RSD 1.25), 100.14% (RSD 1.16). **Conclusion:** The methods is simple, accurate, rapid and reproducible, it can be used as an effectively method for the determination of imperatorin and isoimperatorin in Angelicae Dahurica.

[Key words] Angelicae Dahurica Radix Formula Granules; UPLC; imperatorin; isoimperatorin

白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根。具有解表散寒、祛风止痛、宣通鼻窍、燥湿止带、消肿排脓的功效, 临床主要用于感冒头痛、眉棱骨痛、鼻塞流涕、鼻渊、牙痛、带下、疮疡肿痛^[1]。白芷的主要成分为

香豆素类化合物, 欧前胡素和异欧前胡素为其中主要两种^[2]。对白芷的含量测定方法目前多采用常规 HPLC-UV 法^[3], 《中国药典》2010 年版一部也采用高效液相色谱法对白芷中欧前胡素含量进行测定, 但这种方法耗时长, 浪费试剂, 增加污染。超高效液相色谱是近几年来推出的一种新的液相色谱技术, 峰容量、分析效率、灵敏度和分辨率较常规 HPLC 有了很大的提高, 能大大缩短样品分析时间^[4]。本文采用超高效液相色谱法同时对白芷配方颗粒中的欧前胡素和异欧前胡素进行测定, 并与《中国药典》2010 年版一部白芷的含量测定方法进行了比较。

[收稿日期] 20110718(006)

[通讯作者] * 毕晓黎, 博士, 副主任中药师, 从事中药质量分析, Tel: 020-83501292, E-mail: bxl1130@yahoo.com.cn

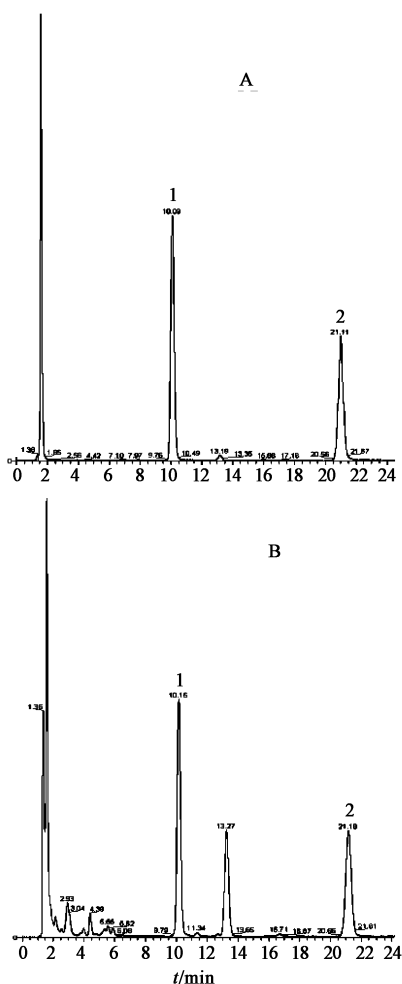
1 材料

1.1 仪器 Thermo Accela 型快速高效液相色谱仪(美国),Mettler-Toledo XS205DU 型电子分析天平(瑞士)。

1.2 试药 欧前胡素对照品(批号 110826-200712)、异欧前胡素对照品(批号 110827-200407)均购自中国药品生物制品检定所;白芷配方颗粒(批号 1012158,1104131,1106164)由广东一方制药有限公司提供。液相用甲醇为色谱纯试剂(一级),水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1] Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm) 色谱柱,流动相甲醇-水(55:45),流速 0.2 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 300 nm,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. 欧前胡素;2. 异欧前胡素

图 1 白芷配方颗粒及对照品 UPLC

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取欧前胡素 7.80 mg、异欧前胡素 5.04 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,再精密量取 1 mL 至 10 mL

量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制成每 1 mL 分别含欧前胡素 7.80 μg、异欧前胡素 5.04 μg 的混合溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约 0.4 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇 45 mL,超声处理(功率 300 W,频率 50 kHz) 1 h,取出,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性范围的考察 精密吸取上述混合对照品溶液,分别进样 1,3,5,7,9 μL,按上述色谱条件测定峰面积,并以峰面积(Y)对欧前胡素、异欧前胡素含量(X)进行回归,得欧前胡素、异欧前胡素的标准曲线分别为 $Y = 66\ 114.796\ 7X - 8.149\ 1$ ($r = 0.999\ 8$), $Y = 77\ 151.844\ 7X - 1.139\ 0$ ($r = 0.999\ 7$)。表明欧前胡素、异欧前胡素分别在 7.8 ~ 70.2, 5.04 ~ 45.36 ng 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL 重复进样 6 次,欧前胡素、异欧前胡素峰面积的 RSD 分别为 1.22%, 1.37%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 5 μL,测得欧前胡素、异欧前胡素峰面积的 RSD 分别为 1.68%, 1.64%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 按拟定的含量测定方法,取同一样品 5 份,分别制备供试液,测得峰面积并计算含量,结果供试品中欧前胡素、异欧前胡素的 RSD 分别为 1.85%, 1.71%, 表明方法重复性好。

2.8 回收率试验 取已知含量的同一样品(批号 1012158)6 份各约 0.2 g,精密称定,分别加入一定量的对照品溶液,按 2.3 项下方法制备加样回收供试品溶液并注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测试,并计算回收率,结果欧前胡素、异欧前胡素的平均回收率分别为 98.82%, 100.14%, RSD 分别为 1.25%, 1.16%, 结果见表 1, 2。

2.9 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 5 μL,按上述色谱条件进行测定,结果见表 3。

3 讨论

曾参考《中国药典》2010 年版一部白芷含量测定项下的色谱条件采用普通液相同时对白芷配方颗粒中欧前胡素和异欧前胡素的含量进行测定,结果欧前胡素和异欧前胡素的分离很好,但分析时间需要 85 min,时间较长,既浪费试剂,增加污染,又不利于提高工作效率。后采用本文所述超高效液相色谱法,在相同的流动相比例条件下再进行测定,结果分

表 1 欧前胡素加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.2019	0.1820	0.1828	0.3629	98.96		
2	0.2091	0.1885	0.1828	0.3662	97.19		
3	0.2075	0.1870	0.1828	0.3713	100.80	98.82	1.25
4	0.2086	0.1880	0.1828	0.3676	98.22		
5	0.2025	0.1825	0.1828	0.3643	99.44		
6	0.2013	0.1815	0.1828	0.3612	98.33		

表 2 异欧前胡素加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品 含量 /mg	加入对 照品量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.2015	0.1218	0.1244	0.2460	99.84		
2	0.2083	0.1259	0.1244	0.2513	100.82		
3	0.2014	0.1217	0.1244	0.2479	101.46	100.14	1.16
4	0.2055	0.1247	0.1244	0.2484	99.85		
5	0.2048	0.1238	0.1244	0.2459	98.14		
6	0.2053	0.1241	0.1244	0.2494	100.71		

析时间大大缩短,仅需 24 min,且分离度也很好,既节省试剂,减少污染,又节省时间,提高工作效率。

表 3 白芷配方颗粒中欧前胡素和异欧前胡素含量测定 (n=2)

批号	欧前胡素	异欧前胡素
1012158	0.90137	0.60427
1104131	0.85233	0.57184
1106164	0.92607	0.61549

同时,普通高效液相色谱法的进样量为 20 μL,而超高效液相色谱法的进样量为 5 μL,也节省了样品量。方法学研究表明该方法简便,灵敏度高,重复性好,结果准确,可作为白芷配方颗粒中欧前胡素和异欧前胡素的含量测定方法,且优于普通高效液相色谱法。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:97.
 [2] 王梦月,贾敏如.白芷的化学成分研究进展[J].中药材,2002,25(6):446.
 [3] 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.
 [4] 杨义芳.超高效/高分离度快速/超快速液相色谱在中药及其制剂研究中的应用[J].中草药,2008,39(8):1259.

[责任编辑 蔡仲德]

《中国中药杂志》2012 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2012 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www. cjmm. com. cn 或 www. 中国中药杂志. com。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。