元胡止痛胶囊质量标准的研究

徐 征*
(中国医科大学高等职业技术学院基础教研室, 辽宁 110001)

[摘要] 建立了 HPLC 法测定元胡止痛胶囊中延胡索乙素的含量的方法及 TLC 鉴别延胡索、白芷的方法。

[关键词] 延胡索乙素; 延胡索; 白芷; HPLC
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)03-0018-02

元胡止痛胶囊是由延胡索(醋制)、白芷两味中药经乙醇渗漉提取制备而成, 具有理气, 活血, 止痛的功效, 用于治疗气滞血瘀的胃痛, 胁痛, 头痛及痛经等。疗效显著, 有多年临床应用的基础。原标准收载于中药成方制剂第 8 册, 由于缺乏完善的质量标准, 很难保证市场上元胡止痛胶囊的质量稳定。本研究建立了制剂中延胡索及白芷的薄层鉴别方法; 建立了以 HPLC 为手段的制剂中有效成分延胡索乙素的含量测定方法。

1 仪器与试剂

仪器: 美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。色谱柱: J' sphere ODS-H80 (4.6mm × 150mm), 4μm。

试剂: 甲醇 色谱纯(天津四友), 乙醚 分析纯(北京化工厂), 高纯水。

对照品: 延胡索乙素(0726-200208) 由中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 纯度为 98% 以上。延胡索对照药材 0928-9904 由中国药品生物制品检定所提供。欧前胡素(0826-9904) 由中国药品生物制品检定所提供。样品来源: 元胡止痛胶囊购于北京市医药公司。

2 薄层鉴别

2.1 延胡索的鉴别 取[含量测定]项下的供试品溶液 20mL, 蒸干, 残渣加甲醇 0.5mL 使溶解, 作为供

[收稿日期] 2005-03-08
[通讯作者] 徐征, Tel: (024) 24214069

试品溶液。另取延胡索对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液, 再取延胡索乙素对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 ⅥB) 试验, 吸取上述溶液各 2μL, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以正已烷-氯仿-甲醇(7.5∶4∶1) 为展开剂, 置以展开剂预饱和的展开缸内, 展开, 取出, 晾干, 以碘蒸气熏至斑点显色清晰, 日光下检视, 供试品色谱中在与对照药材和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。在空气中挥尽板上吸附的碘后, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

2.2 白芷的鉴别 取本品内容物 1g, 加乙醚 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取欧前胡素对照品, 加醋酸乙酯制成每 1mL 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 ⅥB) 试验, 吸取上述两种溶液各 4μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~ 60℃)-乙醚(3∶2) 为展开剂, 在 25℃以下展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以甲醇-水-磷酸盐缓冲液(磷酸氢二钠 2.24g 和磷酸二氢钠 0.98g, 加水至 100mL)(58∶42∶1.8) 为流动相; 检测波长 283nm。理论板数按延胡索乙素峰计算应不低于 4000。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.1mg 的对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备 取本品内容物约 1g, 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 加浓氨试液 5mL, 浸润 20min, 再加乙醚 50mL, 超声处理 1h, (功率 250W, 频率 20kHz), 放置至室温, 加乙醚稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 50mL, 低温挥干, 残渣加甲醇适量使溶解, 并转移至 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

3.4 空白溶液的制备 按处方中药味比例, 自配不含延胡索的群药, 按其工艺制成空白制剂, 再按供试品溶液制备方法制备并测定, 结果空白溶液在与延胡索乙素对照品相同保留时间处未显明显色谱峰, 故认为无干扰。

3.5 线性关系考察 取干燥至恒重的延胡索乙素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1mL 含 0.27mg 的溶液。分别精密吸取 2, 4, 6, 8, 10μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明, 延胡索乙素在 0.54~ 2.7μg 范围内线性良好。其回归方程为 $Y = -9.231 + 622.935X$, $r = 0.9999$。

3.6 精密度试验 取同一批样品, 制成供试品溶液, 精密吸取同一供试品溶液, 在所确定的 HPLC 条件下, 进样 10μL, 重复进样 5 次, 求得延胡索乙素峰面积相对 RSD(%) 为 1.81。

3.7 稳定性试验 取同一批样品, 制成供试品溶液, 精密吸取同一供试品溶液 5μL, 分别于配制后 0、1、2、4、20、24h, 依法测定, 结果表明供试品溶液在 24h 内基本稳定。RSD(%) 为 1.63。

3.8 重复性试验 取同一批样品 5 份, 制成供试品溶液, 在所确定的 HPLC 条件下进行测定, 结果 RSD(%) 为 2.32, 相对标准偏差< 3%, 说明方法重复性良好。

3.9 回收率试验 采用加样回收法, 精密称取已知含量同一批号的样品约 0.5g, 精密称定, 分别精密加入延胡索乙素对照品, 按供试品溶液的制备方法制备并按上述色谱条件, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 97.03%, 标准偏差为 1.28%。见表 1。

表 1 回收率试验

样品中延胡索乙素的含量(mg)	加入延胡索乙素的量(mg)	测出延胡索乙素的量(mg)	回收率(%)
0.775	0.95	1.699	97.28
0.771	0.95	1.706	98.39
0.751	0.90	1.612	95.64
0.746	0.90	1.627	97.98
0.743	0.92	1.626	95.88

3.10 样品测定结果 测定 3 批市售元胡止痛胶囊延胡索乙素的含量, 分别精密吸取对照品溶液 10μL 与供试品溶液 10μL, 注入液相色谱仪, 测定。结果分别为 0.38, 0.33, 0.35(mg/粒)。

根据上述测定结果, 暂定本品每粒含延胡索以延胡索乙素($C_{21}H_{25}NO_4$) 计, 不得少于 0.28mg。

4 讨论

参考文献[1] 的方法确定了以乙醚作为提取溶剂, 超声处理(1h) 与加热回流提取(1h) 延胡索乙素的含量接近, 高于冷浸 24h, 由于超声处理较简便, 故采用超声处理。分别超声处理 30、45、60、90min, 结果表明, 超声处理 60min 已提取安全, 故采用超声处理 60min。