

高效液相色谱法测定牙疼舒滴丸中欧前胡素含量*

邓 莉 王 盟[△] 刘 辉 赵亚鑫

(济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 济宁 272011)

摘 要 目的 建立高效液相色谱法测定牙疼舒滴丸中欧前胡素含量的方法。方法 采用 ODS-2 HYPER-SIL 柱(5 μ m, 250mm $\times$ 4.6mm); 流动相: 甲醇-水(55: 45); 检测波长: 300nm; 流速: 1.0ml/min。结果 欧前胡素在 0.50~520 μ g/ml 范围内线性关系良好, $r=0.9998$, 平均加样回收率 98.38%, RSD 值为 1.05%。结论 该方法简便、准确、重复性好, 可用于牙疼舒滴丸的质量控制。

关键词 牙疼舒滴丸; 欧前胡素; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2016)06-158-03

Determination of imperatorin in toothache drop pills by HPLC

DENG Li, WANG Meng, LIU Hui, ZHAO Yaxin

(Jining No. 1 People's Hospital & the Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272011, China)

Abstract: Objective To establish the content of imperatorin in compound Toothache Drop Pills by HPLC. **Methods** The column of HYPERSIL ODS-2 (5 microns, 250 mm x 4.6 mm) was used. The mobile phase was methanol-water (split 55: 45). The detection wave length was 300 nm. The flow rate was 1.0 ml/min. **Results** When the determination of imperatorin was 0.50 ~ 520 μ g/ml the linear relationship was good ($r=0.9998$). The average recovery rate was 98.38%. RSD values were 1.05%. **Conclusion** The method is simple, accurate and reproducible, which can be used for quality control of Toothache Drop Pills.

Keywords: Toothache Drop Pills; Imperatorin; HPLC

牙疼舒滴丸由白芷、紫草和细辛 3 味中药组成。白芷为伞形科植物的白芷或杭白芷的根, 味辛、性温, 归肺、脾、胃, 具有祛风除湿、通窍止痛、消肿排脓等功效^[1]。紫草主要用于解毒透疹、血热毒盛、水火烫伤等^[2-3]。细辛具有祛风, 散寒, 行水, 开窍之功效^[4]。上述药材提取物采用滴制法可制备成牙疼舒滴丸。为有效控制牙疼舒滴丸质量, 本文采用高效液相色谱法对牙疼舒滴丸中欧前胡素含量进行了测定。现报道如下。

1 仪器与试剂

石油醚(北京五二九五二华工厂); 乙醚(天津市巴斯夫华工有限公司); 甲醇(天津市科密欧化学试剂有限公司); 欧前胡素对照品(中国药品生

物制品检定所, 批号 20140102); 白芷、紫草、细辛均购自济宁市邦尔中药饮片有限公司, 经泰山医学院药学院赵雪梅教授鉴定, 批号 20140305; BT124S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器(美国安捷伦科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 处方

白芷 220g、紫草 120g、细辛 60g。

2.2 制备工艺

将药材按处方量装入圆底烧瓶中, 加入 95% 乙醇, 静置 12h, 于水浴中回流提取 0.5h, 回流 3 次, 抽滤后合并滤液, 将滤液置液体蒸发回收仪中回收乙醇, 浓缩干燥至浸膏状, 用乙醚萃取后倒入分液漏斗中, 静置分层后, 取上层清夜至液体蒸发

* [基金项目] 济宁市医药卫生科技项目(2013JNWK113)

[△] [通信作者] 王盟, E-mail: 15105475211@163.com

回收仪中回收乙醚,浓缩干燥至浸膏状^[3],按处方量取 PEG6000,充分搅拌均匀,按一定的滴速滴入液体石蜡中,成型后取出,晾干即得。

2.3 色谱条件

ODS-2 HYPERSIL 柱 (5 μ m, 250mm $\times$ 4.6mm);流动相:甲醇-水(55:45);检测波长:300nm;流速:1.0ml/min;柱温:25 $^{\circ}$ C。

2.4 溶液配制

1)对照品溶液的制备:精密称取欧前胡素对照品 4.6mg,置 50ml 容量瓶中,加甲醇超声处理 30min,制得浓度为 920 μ g/ml 的对照品溶液。2)供试品溶液的制备:取牙疼舒滴丸 75.5mg,置 50ml 容量瓶中,加甲醇超声处理 1h,取出,放冷,用甲醇稀释至刻度,取续滤液,即得。3)阴性对照溶液的制备:取缺白芷的牙痛滴丸 84.4mg,置 50ml 容量瓶中,加甲醇超声处理 1h,取出,放冷,用甲醇稀释至刻度,取续滤液,即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性实验 分别吸取“2.4”项下的 3 种溶液各 20 μ L 进样,测定。供试品溶液色谱图中有与欧前胡素保留时间相同的吸收峰,阴性对照溶液无此吸收峰。说明本方法测定牙疼舒滴丸中欧前胡素专属性强,无阴性干扰。色谱图见图 1-3。

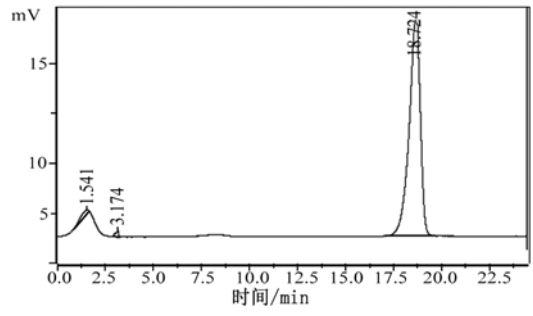


图 1 对照品溶液色谱图

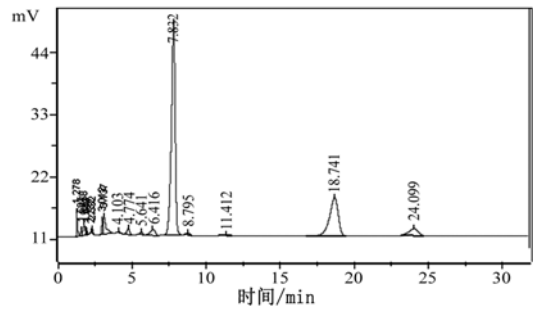


图 2 供试品溶液色谱图

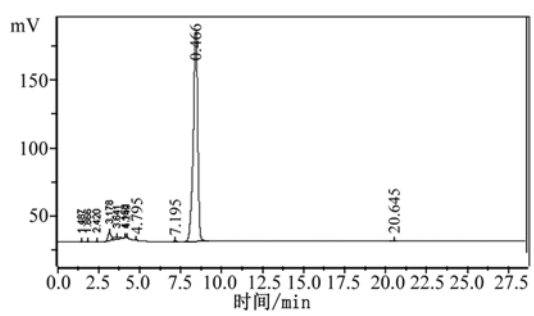


图 3 空白对照溶液色谱图

2.5.2 线性关系考察 取对照品适量,加甲醇制成每 1ml 含 0.5,1.0,2.0,5.0,10,15,20 μ g 的溶液,分别取 20 μ L 注入高效液相色谱仪中,记录色谱图,以浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行回归,方程为 $Y = 109400X - 2202.6$,相关系数 $r = 0.9998$ ($n = 6$),标准品在 0.5 ~ 20 μ g/ml 范围内线性关系良好。

2.5.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液(2 μ g/ml) 20 μ L,连续进样 6 次,测定峰面积, $RSD = 0.34\%$ ($n = 6$)。

2.5.4 稳定性试验 精密吸取“2.4”项下同一供试品溶液各 20 μ L,于 0h,3h,6h,12h,24h 分别进样测定欧前胡素含量, $RSD = 0.95\%$ ($n = 6$),表明在 24h 内供试品溶液基本稳定。

2.5.5 加样回收率试验 取已知含量的滴丸约 0.2g,共 9 份,置具 20ml 塞锥形瓶中,精密加入 920 μ g/ml 的取欧前胡素对照品溶液 0.30、0.40、0.45ml,各 3 份,按“2.3.2”项制备样品,精密吸取供试品溶液 20 μ L,进样测定,结果显示欧前胡素平均加样回收率为 98.38%, RSD 为 1.05%。见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

序号	样品中含 量/ μ g	加入量 / μ g	测定量 / μ g	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	194.2	92	286.5	100.3		
2	194.2	92	282.5	95.98		
3	194.2	92	278.5	98.41		
4	234.1	230	460	98.22		
5	234.1	230	461.5	98.87	98.38	1.05
6	234.1	230	463	99.52		
7	209.2	460	659	97.78		
8	209.2	460	661	98.22		
9	209.2	460	660.5	98.11		

2.6 含量测定

精密称定牙疼舒滴丸 15 粒,精密称定为 0.1133g,研细,精密称取 75.5mg(相当于 1 丸重量),置于 50ml 容量瓶中,用甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,收集续滤液,即为供试品溶液,备用。分别精密吸取供试品各 20 μ l,按照 2.3.4 方法测定滴丸中欧前胡素含量平均为 0.2073mg, RSD 为 1.04%。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

高效液相色谱法在选择检测波长时,经预实验测定欧前胡素在 300nm 波长处有较大吸收,因此,选择 300nm 波长为检测波长^[4-5]。

3.2 含量测定组分的选择

牙疼舒滴丸中白芷为方中主药之一,白芷的主要有效成分为欧前胡素^[6-7]。为了制定牙疼舒滴丸的质量标准,有效控制牙疼舒滴丸的质量,本文以测定欧前胡素的含量来控制牙疼舒滴丸的质量是合理的、科学的。

3.3 提取时间的选择

在实验过程中,进行了提取时间的选择性试验,供试品溶液分别超声处理(200W,40kHz) 30、60、80 min 后,测定其含量,结果经超声处理 60 min 时,欧前胡素的含量基本不再增加,说明欧前胡素已基本提取完全,因此,样品提取时间确定为 60 min。

3.4 流动相的选择

在实验过程中曾经选用多个流动相,如不同比例的甲醇-水,乙腈-水,甲醇-水-乙酸胺等,结果以本文所选流动相甲醇-水(55:45)的峰形及分离效果最好,可使样品中欧前胡素与相邻的色谱峰分离较好。

3.5 提取溶剂的选择

欧前胡素的脂溶性较大,实验中选择甲醇、乙醇和乙醚为提取溶剂,对提取结果进行含量测定,结果表明,用极性较小的乙醚作为提取溶剂,所制得的供试液中杂质干扰峰较少,欧前胡素含量高^[8-10]。

本实验建立的方法操作简便,具有良好的稳定

性、精确度及重现性,质量可控,能够较好地对待测舒滴丸中的欧前胡素进行定量、定性分析,对今后牙疼舒滴丸中欧前胡素的鉴定有积极意义。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京:化学工业出版社,2010:90.
- [2] 沙南南,刘克,苏延友,等. 泰山紫草中总萘醌提取方法的研究[J]. 泰山医学院学报,2015,36(2):128-129. DOI:10.3969/j.issn.1004-7115.2015.02.003.
- [3] 崔晓秋. 中药紫草化学成分及药理作用最新研究进展[J]. 济宁医学院学报,2015,38(5):356-358. DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.05.014.
- [4] 臧埔,武晓琳,郜玉钢,等. 不同产地细辛有效成分与毒性成分的比较研究[J]. 中国现代应用药学,2014,31(4):416-421. DOI:10.13748/j.cnki.issn.1007-7693.2014.04.008.
- [5] 陈贤春,王玉蓉,路世鹏. 白芷提取工艺的研究[J]. 中成药,2005,27(2):145-147. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2005.02.008.
- [6] 张志梅,翟志席,杨重军,等. 白芷体内欧前胡素和异欧前胡素含量研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(17):1377-1378. DOI:10.3321/j.issn:1001-5302.2005.17.025.
- [7] 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):9-10. DOI:10.3969/j.issn.1009-3931.2005.03.006.
- [8] 李立荣,雷玉萍,殷帅. 高效液相色谱法测定通窍鼻炎片中欧前胡素的含量[J]. 中南药学,2006,4(6):434-436. DOI:10.3969/j.issn.1672-2981.2006.06.012.
- [9] 高颖,马逾英,钟世红,等. 川白芷中欧前胡素含量测定方法的比较[J]. 成都中医药大学学报,2006,29(4):49-51. DOI:10.3969/j.issn.1004-0668.2006.04.019.
- [10] 张慧,海广范,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):138-140.
- [11] 毛彦杰,岳敏,谷学新,等. HPLC 测定清眩丸中欧前胡素的含量[J]. 中成药,2005,27(5):618-619. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2005.05.048.

(收稿日期 2016-01-27)