元胡止痛片中延胡索乙素和欧前胡素的含量测定

杨静　马斐　李海霞　任菲菲　（德州市药品检验所　山东德州 253015）

摘　要　目的：建立高效液相色谱法同时测定元胡止痛片中两种功效成分延胡索乙素和欧前胡素的含量。**方法：**色谱柱为AKZONOBEL Kromasil 100-5 C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液（52∶48）混合后以三乙胺调pH至6.5；流速1.0 ml·min^{-1}；柱温40℃；检测波长284 nm；进样量10 μl。**结果：**延胡索乙素在0.004 2～0.084 0 mg·ml^{-1}范围线性关系良好，r=1.000 0，平均回收率97.72%，*RSD*为1.10%（n=6）；欧前胡素在0.003 6～0.072 0 mg·ml^{-1}范围线性关系良好，r=0.999 7，平均回收率为97.99%，*RSD*为0.96%（n=6）。**结论：**本方法操作简便，准确，可用于完善元胡止痛片的质量标准。

关键词　元胡止痛片；延胡索乙素；欧前胡素；高效液相色谱法；含量测定

中图分类号：R927.2　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1008-049X(2014)09-1512-03

Content Determination of Tetrahydropalmatine and Imperatorin in Yuanhu Zhitong Tablets

Yang Jing, Ma Fei, Li Haixia, Ren Feifei (Dezhou Institute for Drug Control, Shandong Dezhou 253015, China)

ABSTRACT　Objective: To establish a method for the content determination of tetrahydropalmatine and imperatorin in Yuanhu Zhitong tablets by HPLC. **Methods:** An AKZONOBEL Kromasil 100-5 C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used and the mobile phase consisted of methanol and 0.1% phosphoric acid (52∶48) (adjusting pH to 6.5 with triethylamine), the flow rate was 1.0 ml·min^{-1} at the column temperature of 40℃, the detection wavelength was at 284 nm, and the injection volume was 10 μl. **Results:** The linear range of tetrahydropalmatine was 0.004 2-0.084 0 mg·ml^{-1} (r=1.000 0). The average recovery was 97.72% with *RSD* of 1.10% (n=6). The linear range of imperatorin was 0.003 6-0.072 0 mg·ml^{-1} (r=0.999 7). The average recovery was 97.99% with *RSD* of 0.96% (n=6). The measurement results of 10 batches were stable and reliable. **Conclusion:** The method is simple and accurate, which can be used to improve the quality standard.

KEY WORDS　Yuanhu Zhitong tablets; Tetrahydropalmatine; Imperatorin; HPLC; Determination

元胡止痛片组方为醋延胡索和白芷两味中药，　功能主治为理气，活血，止痛，用于气滞血瘀的胃痛，

通讯作者：杨静　Tel：(0534)2236059　E-mail：yjdzyjs@sina.com

胁痛,头痛及痛经[1]。《中国药典》2010 年版一部对其君药醋延胡索规定了含量测定方法,但未规定方中白芷的含量控制。本文参考《中国药典》2010 年版对元胡止痛片中延胡索乙素的含量测定方法和中药饮片白芷的含量测定方法,并参照相关文献方法[2],经方法验证,确定采用 HPLC 同时测定元胡止痛片中延胡索乙素和欧前胡素含量的方法,并对 5 个厂家的 10 批样品进行了测定。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪,XS105DU 电子分析天平(准确度0.1 mg/0.01 mg),TU-1901 紫外分光光度计。

1.2 试药

延胡索乙素对照品(批号:110726-201213,含量:99.8%)、欧前胡素对照品(批号:110826-201214,含量:99.5%)均购于中国食品药品检定研究院。甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为纯化水。

1.3 样品

随机购买 5 个厂家的 10 批样品(批号见表 1)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:AKZONOBEL Kromasil 100-5 C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1% 磷酸溶液(52∶48)混合后以三乙胺调 pH 至6.5;流速:1.0 ml · min^{-1};柱温:40℃;检测波长:284 nm;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 延胡索乙素对照品溶液 精密称取延胡索乙素对照品10.54 mg,于 50 ml 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,混匀即得。

2.2.2 欧前胡素对照品溶液 精密称取欧前胡素对照品9.09 mg,于 50 ml 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,混匀即得。

2.2.3 对照品混合溶液 精密量取上述两种对照品溶液各 5 ml,于同一 25 ml 量瓶中,以甲醇稀释至刻度,混匀即得。

2.2.4 供试品溶液[1] 取样品 20 片,除去包衣,精密称定,研细。取细粉约 1 g(约相当于样品 4 片),精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 50 mL,密塞,称重,超声提取(300 W,40 kHz)1 h,放冷,称重,用甲醇补足减少的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 ml,加在中性氧化铝柱上(100 ~ 200 目,内径 1 cm),继用甲醇 10 ml 洗脱,合并流出液和洗脱液,蒸干,残渣用甲醇适量使溶解,定容于 5 ml 量瓶,摇匀,0.45 μm滤膜过滤,即得。

2.2.5 阴性样品溶液 按照元胡止痛片处方比例及制剂工艺要求,分别制备不含醋延胡索和缺白芷的阴性样品。各取阴性样品约 1 g,照“2.2.4”项下方法,分别制得相应两种阴性样品溶液。

2.3 线性关系试验

分别吸取上述两种对照品溶液各0.5,2.0,4.0,6.0,8.0,10.0 ml,于 25 ml 量瓶中,以甲醇稀释至刻度,混匀,即得 6 个浓度的对照品混合溶液,在上述色谱条件下,分别进样 10 μl,以峰面积(Y)为纵坐标,以浓度(X,mg · ml^{-1})为横坐标,绘制标准曲线,结果表明:延胡索乙素在0.004 2 ~ 0.084 0 mg · ml^{-1}范围与其峰面积线性关系良好,回归方程为 $Y = 8.67 \times 10^2 X - 1.84$, $r = 1.000\ 0$;欧前胡素在 0.003 6 ~ 0.072 0 mg · ml^{-1}范围与其峰面积线性关系良好,回归方程为 $Y = 1.68 \times 10^3 X - 0.91$, $r = 0.999\ 7$。

2.4 精密度试验

精密量取对照品混合溶液 10 μl,注入液相色谱仪,连续测定 6 次,以峰面积计算,延胡索乙素 *RSD* 为0.47%($n = 6$),欧前胡素 *RSD* 为0.27%($n = 6$)。

2.5 重复性试验

取同一批样品(A-1 号样品)照“2.2.4”方法制备样品溶液 6 份,依法测定,计算各组分含量,结果延胡索乙素平均含量为 522 μg · g^{-1},*RSD* 为1.70%($n = 6$),欧前胡素平均含量为 163 μg · g^{-1},*RSD* 为 0.82%($n = 6$)。

2.6 加样回收率试验

取已知含量的 B-5 号元胡止痛片样品 6 份,每份约0.5 g,分别准确加入延胡索乙素对照品溶液 1 ml 和欧前胡素对照品溶液0.5 ml,照样品含量测定方法操作,计算得延胡索乙素平均回收率为 97.72%,*RSD* 为1.10%($n = 6$);欧前胡素平均回收率为97.99%,*RSD* 为0.96%($n = 6$)。

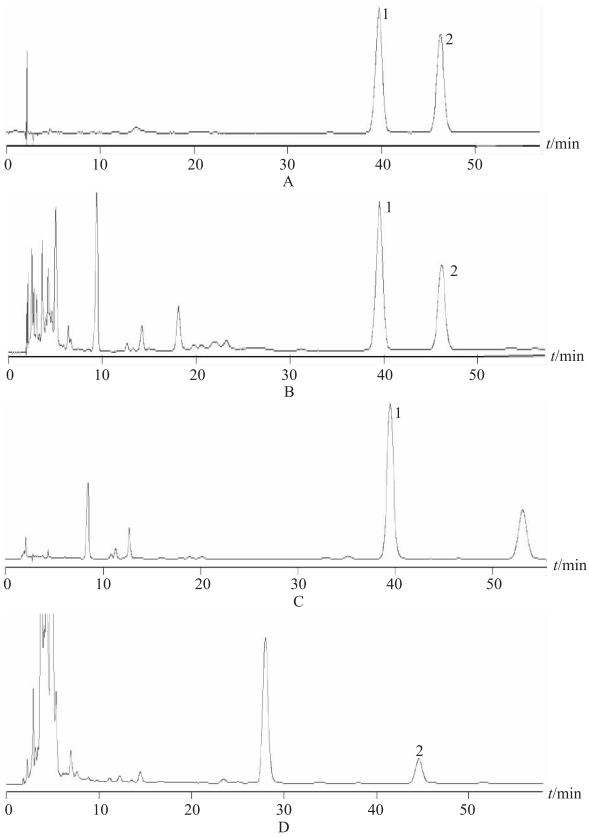
2.7 稳定性试验

取 A-1 号样品照“2.2.4”方法制备供试品溶液,依法分别在 0,4,8,12,16,20 h 进样,以峰面积计算,延胡索乙素 *RSD* 为1.32%($n = 6$),欧前胡素 *RSD* 为1.09%($n = 6$),表明供试品溶液至少在 20 h 内相对稳定。

2.8 专属性试验

分别精密量取对照品混合溶液、样品溶液、两种阴性样品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,结果元胡止痛片样品溶液在与延胡索乙素对照品、欧前胡素对照品色谱峰保留时间一致

的位置处有相应的色谱峰，而其他组分对测定无干扰。见图1。



A. 对照品溶液　B. 样品溶液　C. 缺白芷阴性样品溶液
D. 缺延胡索阴性样品溶液　1. 延胡索乙素　2. 欧前胡素

图1　HPLC 色谱图

2.9　耐用性试验

按照确定的色谱条件，分别将流动相的比例调整为甲醇-0.1%磷酸溶液(61∶39)混合后以三乙胺调 pH 6.0；将柱温调整为30℃；将色谱柱更换为 Thermo syncronis C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，依法进样供试品溶液进行测定，结果各组分均能达到基线分离，且理论塔板数均大于5 000，说明本方法具有较好的耐用性。

2.10　样品含量测定

取样品照“2.2.4”方法制备样品溶液，分别精密量取对照品混合溶液和样品溶液各10 μl，注入液相色谱仪，按上述色谱条件测定，共测定5个厂家的10批样品，结果见表1。

3　讨论

3.1　取对照品混合溶液，用可见-紫外分光光度法在波长200～400 nm进行扫描，结果溶液在284 nm处有最大吸收且周围无明显杂质干扰，故以284 nm作为测定波长。3.2　分别考察95%乙醇、70%甲醇、甲醇作为样品提取溶剂，以甲醇作溶剂时，杂质少，色谱峰效果最好，故选择甲醇做提取溶剂。

表1　样品含量测定结果($\mu g \cdot g^{-1}$，$n=2$)

样品编号	批号	延胡索乙素	欧前胡素
A-1	130604	522	164
A-2	130401	495	117
A-3	130102	459	117
B-4	120205	492	123
B-5	120923	574	143
C-6	20120507	781	52
C-7	20121203	737	48
D-8	C83001	664	654
D-9	C83002	618	610
E-10	120706	445	124

注：A、B、C、D、E分别代表五个厂家。

3.3　延胡索乙素为方中君药醋延胡索的主要功效成分，10批样品测定结果表明：各批样品延胡索乙素的含量稳定，均符合《中国药典》2010年版一部规定要求。

3.4　欧前胡素为方中另一味主药白芷的主要功效成分，10批样品测定结果显示，同厂家生产的样品欧前胡素含量稳定，但不同厂家生产的样品欧前胡素含量差别较大，这间接反映出不同厂家在生产中使用中药白芷的质量差异很大，因此在质量标准中增加其含量测定指标非常必要。

3.5　本方法可同时测定元胡止痛片中延胡索乙素和欧前胡素的含量，可用于完善质量标准，以全面评价产品质量。

参　考　文　献

1　中国药典[S]. 2010年版. 一部. 525

2　张婧，邹清河，刘辉，等. HPLC法同时测定元胡止痛缓释片中欧前胡素和延胡索乙素的含量[J]. 中国药师，2012，15(12)：1746-1748

3　申放，高卫东. 元胡止痛片中欧前胡素和延胡索乙素含量测定提取方法的研究[J]. 中国民族民间医药，2009，18(7)：15，121

(2014-04-05 收稿　2014-06-02 修回)