

# UPLC法同时测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素的含量

杨 林\*(重庆医药高等专科学校药学院,重庆 401331)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2983-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.33

**摘要** 目的:建立同时测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素含量的方法。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(梯度洗脱),流速为0.3 ml/min,检测波长为248 nm,柱温为30 ℃,进样量为3 μl。结果:欧前胡素和异欧前胡素的检测质量浓度线性范围分别为1.305~13.05、1.096~10.96 μg/ml(*r*均为0.999 9);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率分别为97.45%~100.10%(RSD=1.00%,*n*=9)、98.33%~101.20%(RSD=1.01%,*n*=9)。结论:该方法准确、快速、可靠,可用于同时测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素的含量。

**关键词** 清眩片;超高效液相色谱法;欧前胡素;异欧前胡素

## Simultaneous Determination of Imperatorin and Isoimperatorin in Qingxuan Tablet by UPLC

YANG Lin(School of Pharmacy, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of imperatorin and isoimperatorin in Qingxuan tablet. METHODS: UPLC was performed on the column of ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-water (gradient elution) at a flow rate of 0.3 ml/min, the detection wavelength was 248 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 3 μl. RESULTS: The linear range was 1.305-13.05 μg/ml for imperatorin (*r*=0.999 9) and 1.096-10.96 μg/ml for isoimperatorin (*r*=0.999 9); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recoveries were 97.45%-100.10% (RSD=1.00%, *n*=9) and 98.33%-101.20% (RSD=1.01%, *n*=9), respectively. CONCLUSIONS: The method is accurate, fast and reliable, and can be used for the simultaneous determination of imperatorin and isoimperatorin in Qingxuan tablet.

**KEYWORDS** Qingxuan tablet; UPLC; Imperatorin; Isoimperatorin

清眩片是由川芎、白芷、薄荷、荆芥穗、石膏组成的中药复方制剂,具有散风清热的功效,临床上主要用于治疗风热、头晕、目眩、偏正头痛、鼻塞牙痛等证<sup>[1]</sup>。白芷中含有欧前胡素和异欧前胡素,是主要的香豆素类成分<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明,白芷中所含的呋喃香豆素药理活性明确,具有平喘、降压、抗菌、解痉等多种药理作用<sup>[3-4]</sup>。2015年版《中国药典》(一部)中清眩片项下采用高效液相色谱法(HPLC)测定欧前胡素的含量<sup>[5]</sup>;目前关于清眩片含量测定的文献报道很少,一般采用HPLC法对香豆素类成分进行测定<sup>[6-7]</sup>,或采用气相色谱法测定薄荷脑的含量<sup>[8]</sup>。超高效液相色谱法(UPLC),由于柱效高、分离效果好、分析速度快,已被越来越多地应用于中成药有效成分含量测定的研究<sup>[9-10]</sup>。目前,未见采用UPLC法对清眩片中欧前胡素和异欧前胡素进行含量测定的报道。因此,本研究采用UPLC法建立了同时测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素含量的方法,以期为该制剂的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

ACQUITY型UPLC仪,包括二极管阵列检测器(美国Waters公司);XPE105型十万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ-200VDE型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:200 W,频率:45 kHz)

### 1.2 药品与试剂

清眩片(太极集团重庆桐君阁药厂有限公司,批号:12110007、12050003、12070004,0.55 g/片);欧前胡素、异欧前胡素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110826-201013、110827-200407,纯度均>99%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:0.3 ml/min;检测波长:248 nm;柱温:30 ℃;进样量:3 μl。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program

时间,min	A,%	B,%
0~4	60	40
4~4.5	60→100	40→0
4.5~7	100	0
7~7.5	100→60	0→40
7.5~9	60	40

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取欧前胡素对照品0.013 05 g,置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得欧前胡素对照品贮备液。精密称取异欧前胡素对照品0.010 96 g,置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得异欧前胡素对照品贮备液。精密量取上述对照品贮备液各5 ml,置于同一50 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制得欧前胡素质量浓度为13.05 μg/ml、异欧前胡素质量浓度为10.96 μg/ml的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品20片,研钵研细,精密称取0.5 g,置于25 ml量瓶中,加20 ml甲醇溶解,称定质量,超声处理30 min,放至室温(25 ℃),加甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取不含白芷的其他药材和辅料,按样品的制备工艺和配方比例制备不含白芷的阴性样品,再按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法操作,即得。

\*副主任药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:023-68589782

### 2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,两种待测成分与其他成分均能达到基线分离,分离度>1.5,其他成分对测定无干扰,理论板数以欧前胡素峰计>3 000,保留时间为2.5 min。

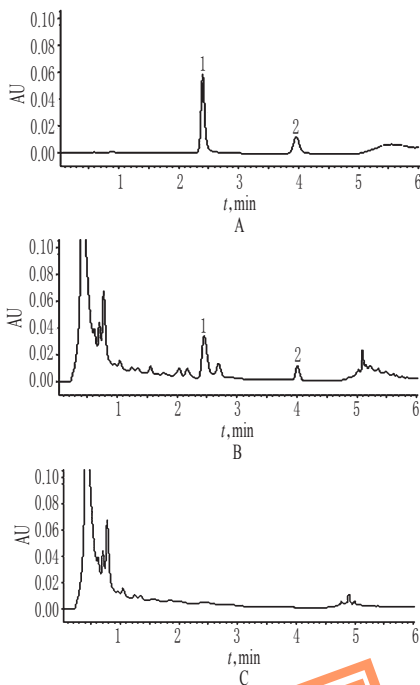


图1 超高效液相色谱图

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

Fig 1 UPLC chromatogram

A. mixed reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. imperatorin; 2. isoimperatorin

### 2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液1、2、4、6、8、10 ml,分别置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得系列混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各成分质量浓度( $x, \mu\text{g/ml}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得欧前胡素的回归方程为 $y=13\ 518x+4\ 851$ ( $r=0.999\ 9$ )、异欧前胡素的回归方程为 $y=11\ 425x+4\ 136$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,欧前胡素和异欧前胡素的检测质量浓度线性范围分别为1.305~13.05、1.096~10.96  $\mu\text{g/ml}$ 。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,欧前胡素和异欧前胡素峰面积的RSD分别为0.22%、0.34%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:12110007)适量,分别于室温(25  $^{\circ}\text{C}$ )下放置0、1、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,欧前胡素和异欧前胡素峰面积的RSD分别为0.34%、0.41%( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温放置8 h内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

取样品(批号:12110007)粉末适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录

峰面积并计算含量。结果,欧前胡素和异欧前胡素的平均含量分别为477.9、198.2  $\mu\text{g/片}$ ,RSD分别为0.51%、0.48%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取样品(批号:12110007)粉末0.25 g,共9份,分别加入低、中、高质量的对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 2 Results of the recovery tests( $n=9$ )

待测成分	取样量, g	样品含量, $\mu\text{g}$	加入量, $\mu\text{g}$	测得量, $\mu\text{g}$	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
欧前胡素	0.250 1	238.95	195.75	434.90	100.10	98.57	1.00
	0.249 9	238.85	195.75	432.07	98.71		
	0.250 0	238.99	195.75	430.88	98.03		
	0.249 9	238.88	234.90	474.01	100.10		
	0.249 8	238.79	234.90	470.00	98.43		
	0.250 1	239.05	234.90	467.96	97.45		
	0.249 8	238.78	287.10	520.17	98.01		
	0.249 9	238.90	287.10	518.82	97.50		
	0.249 7	238.70	287.10	522.30	98.78		
异欧前胡素	0.250 1	99.10	76.72	175.50	99.58	99.73	1.01
	0.249 9	99.06	76.72	174.50	98.33		
	0.250 0	99.08	76.72	176.18	100.50		
	0.249 9	99.05	98.64	196.89	99.19		
	0.249 8	98.98	98.64	198.80	101.20		
	0.250 1	99.02	98.64	196.72	99.05		
	0.249 8	98.95	120.56	217.90	98.66		
	0.249 9	98.93	120.56	219.85	100.30		
	0.249 7	98.83	120.56	220.35	100.80		

### 2.9 样品含量测定

取3批样品粉末各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算各成分含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 3 Results of contents determination of samples( $n=3$ )

批号	欧前胡素, $\mu\text{g/片}$	平均值, $\mu\text{g/片}$	异欧前胡素, $\mu\text{g/片}$	平均值, $\mu\text{g/片}$
12110007	474.9	477.9	197.3	198.2
	476.8		198.5	
	481.8		198.6	
12050003	414.1	416.1	201.7	202.3
	416.1		202.9	
	418.2		202.1	
12070004	436.5	439.6	212.2	210.5
	438.4		209.5	
	443.8		210.2	

## 3 讨论

### 3.1 与HPLC法的比较

UPLC法所用填料的粒径更小,与HPLC法相比能获得更高的柱效,并可缩短分析时间,提高分析通量<sup>[11]</sup>。本研究采用UPLC法测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素的含量,其保留时间仅为2.5 min和4 min,而HPLC法测定中欧前胡素和异欧前胡素的保留时间分别为15 min和18 min。UPLC法大大缩短了分析时间,且色谱峰峰形好、对称,柱效更高。在分析中药组分时UPLC法有明显的优势,也成为该领域今后的发展趋势。

### 3.2 测定波长的选择

# 硫酸铈滴定液浓度标定的测量不确定度评定

黎雪清<sup>1,2\*</sup>, 张力扬<sup>1,2</sup>, 杨敏<sup>1,2</sup>, 王铁杰<sup>1,2</sup>, 郑党儿<sup>3</sup>(1.深圳市药品检验研究院, 广东深圳 518057; 2.深圳药品质量标准研究重点实验室, 广东深圳 518057; 3.广州铁路集团公司中心计量所, 广州 510080)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2985-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.34

**摘要** 目的:建立硫酸铈滴定液(0.1 mol/L)浓度标定的测量不确定度评定方法。方法:分析硫酸铈滴定液浓度标定的不确定度来源,建立测量模型,对其标定过程中各不确定度的分量进行分析评估,计算扩展不确定度。结果:硫酸铈滴定液(0.1 mol/L)浓度标定的扩展不确定度为0.000 5 mol/L,其浓度可表示为(0.101 2±0.000 5)mol/L,包含因子 $k=2$ 。结论:该方法适用于硫酸铈滴定液浓度标定的测量不确定度评定。

**关键词** 硫酸铈滴定液;浓度;标定;测量不确定度;评定

## Evaluation of Uncertainty for Concentration Calibration of Cerous Sulfate Titration Solution

LI Xueqing<sup>1,2</sup>, ZHANG Liyang<sup>1,2</sup>, YANG Min<sup>1,2</sup>, WANG Tiejie<sup>1,2</sup>, ZHENG Dang'er<sup>3</sup>(1.Shenzhen Institute for Drug Control, Guangdong Shenzhen 518057, China; 2.Shenzhen Key Laboratory of Drug Quality Standard Research, Guangdong Shenzhen 518057, China; 3.Center Measurement of Guangzhou Railway Group Company, Guangzhou 510080, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the evaluation of the uncertainty for the concentration calibration of Cerous sulfate titration solution (0.1 mol/L). METHODS: The sources of uncertainty of Cerous sulfate titration solution was analyzed, and measurement model was established to evaluate the components of uncertainty and calculate the expanded uncertainty. RESULTS: The expanded uncertainty of Cerous sulfate titration solution (0.1 mol/L) was 0.000 5 mol/L and the concentration was (0.101 2±0.000 5) mol/L, coverage factor  $k=2$ . CONCLUSIONS: The method is suitable for the uncertainty evaluation for the concentration calibration of Cerous sulfate titration solution.

**KEYWORDS** Cerous sulfate titration solution; Concentration; Calibrate; Uncertainty; Evaluation

经 ACQUITY 型 UPLC 仪的二极管阵列检测器扫描欧前胡素和异欧前胡素的单一对照品溶液,通过各自的紫外吸收曲线可知欧前胡素和异欧前胡素分别在 301、248 nm 波长处有最大吸收,且发现欧前胡素在 248 nm 波长处的吸收也较好,而流动相在此波长处对吸收并无干扰。故参考相关文献<sup>[6]</sup>,最终选择 248 nm 作为本试验的测定波长。

### 3.3 流动相的选择

参考相关文献<sup>[5-7]</sup>,以甲醇-水为流动相,探索其最佳比例。结果发现,按照“2.1”项下的流动相比比例进行洗脱可获得较好的效果,欧前胡素和异欧前胡素与相邻成分分离度好,且峰形对称;同时,考虑到中成药组分复杂,为避免各成分的相互干扰,并保护色谱柱,在异欧前胡素出峰后加大甲醇比例进行洗脱,以保证测定结果的准确性。

综上所述,本方法准确、快速、可靠,可用于同时测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素的含量。

### 参考文献

- [1] 张秋玲,黄志豪.清眩片质量标准研究[J].国际医药卫生导报,2012,18(4):549.
- [2] 周爱德,李强,雷海民.白芷化学成分的研究[J].中草药,2010,41(7):1 081.
- [3] 王梦月,贾敏如,马逾英,等.白芷中四种线型呋喃香豆素

类成分药理作用研究[J].天然产物研究与开发,2010,22(3):485.

- [4] 郑辉,王德才.白芷的药理作用与临床应用研究进展[J].医药导报,2009,28(1):83.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1 555.
- [6] 许慧君,吉祥,陈钟,等.HPLC-MS 同时测定清眩片中 7 种香豆素类成分的含量[J].中国药学杂志,2011,46(19):1 526.
- [7] 何鸽飞,易爱纯,张顺芝.高效液相色谱法测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素的含量[J].中南药学,2010,8(1):30.
- [8] 阳文武,郭娅,张德伟,等.GC 法测定清眩片中薄荷脑的含量[J].药学研究,2014,33(8):444.
- [9] Kumar A, Saini G, Nair A, Sharma R, et al. UPLC: a preeminent technique in pharmaceutical analysis[J]. Acta Pol Pharm, 2012,69(3):371.
- [10] 汤文伟,沈志滨,尹永芹,等.UPLC 测定香鳞毛蕨中缙马素 BB 的含量[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(10):51.
- [11] 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):1 259.

(收稿日期:2015-07-30 修回日期:2016-04-12)

(编辑:刘柳)

\* 主管药师,硕士。研究方向:药品检验和标准。电话:0755-26031762。E-mail:lixueqing-1987@163.com