

HPLC法同时测定追风舒经活血片中4种成分的含量

王玉娟^{1*},陶利¹,崔苏镇¹,梁竹¹,周金辉^{2#}(1.济南军区总医院,济南 250031;2.济宁医学院药理学系,山东日照 276000)

中图分类号 R283.64;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)31-2942-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.31.23

摘要 目的:建立同时测定追风舒经活血片中羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.05%冰醋酸溶液(梯度洗脱),流速为0.8 ml/min,检测波长为310 nm(羌活醇和异欧前胡素)、330 nm(蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯)。结果:羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的线性范围分别为0.027 8~0.556 0 μg($r=0.999 5$)、0.018 4~0.368 0 μg($r=0.999 4$)、0.059 2~1.184 0 μg($r=0.999 8$)、0.012 6~0.252 0 μg($r=0.999 3$);四者精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1%;平均加样回收率分别为98.69%(RSD=0.86%, $n=6$)、96.92%(RSD=0.62%, $n=6$)、99.13%(RSD=0.95%, $n=6$)、97.79%(RSD=1.38%, $n=6$)。结论:该方法准确、灵敏、重复性好,可用于追风舒经活血片的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;追风舒经活血片;羌活醇;异欧前胡素;蛇床子素;二氢欧山芹醇当归酸酯;含量测定

Simultaneous Determination of 4 Components in Zhufeng Shujing Huoxue Tablet by HPLC

WANG Yu-juan¹, TAO Li¹, CUI Su-zhen¹, LIANG Zhu¹, ZHOU Jin-hui²(1.General Hospital of Jinan Military Command, Jinan 250031, China; 2.School of Pharmacy, Jining Medical University, Shandong Rizhao 276000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop the method for the simultaneous determination of notopterol, isoimperatorin, osthol and columbianadin in Zhufeng shujing huoxue tablet. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Hypersil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05% acetic acid solution (gradient elution) at the flow rate of 0.8 ml/min. The detection wavelength was set at 310 nm (nopterol and isoimperatorin) and 330 nm (osthol and columbianadin). RESULTS: The linear ranges were 0.027 8-0.556 0 μg($r=0.999 5$) for notopterol, 0.018 4-0.368 0 μg for isoimperatorin ($r=0.999 4$), 0.059 2-1.184 0 μg for osthol ($r=0.999 8$) and 0.012 6-0.252 0 μg for columbianadin ($r=0.999 3$), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1%. The average recoveries were 98.69% (RSD=0.86%, $n=6$), 96.92% (RSD=0.62%, $n=6$), 99.13% (RSD=0.95%, $n=6$) and 97.79% (RSD=1.38%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is accurate, sensitive and reproducible, and can be used for the quality control of Zhufeng shujing huoxue tablet.

KEYWORDS HPLC; Zhufeng shujing huoxue tablet; Nopterol; Isoimperatorin; Osthol; Columbianadin; Content determination

追风舒经活血片为中药复方制剂,源于卫生部药品标准中药成方制剂第四册,由马钱子、羌活、独活、麻黄、桂枝、乳香(炒)、木瓜、地枫皮、没药(炒)、千年健、防风、自然铜(煅)、杜仲(炭)、川牛膝、甘草等15味药材组成,具有舒筋活血、散风祛寒的功效,可用于风寒串入经络引起的腰腿疼痛、四肢麻木等证的治疗^[1]。原质量标准未对方中的任何药味进行定量测定。为确保临床疗效,笔者采用高效液相色谱(HPLC)梯度洗脱法对羌活中的羌活醇、异欧前胡素和独活中的蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯进行含量测定,为完善该制剂的质量标准提供依据。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,含G1322A脱气机、G1311A四元泵、

*药师。研究方向:药事管理、药物分析。电话:0531-51666815。
E-mail:1127150638@qq.com

#通信作者:副教授,博士。研究方向:药物合成、药物分析。
E-mail:zhoujinhuilunwen@163.com

G1329A自动进样器、Chemstation色谱工作站、G1315B可变波长检测器(美国Agilent公司);XP205型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司, $d=0.01$ mg);KQ-250型超声波提取器(陕西鼎盛仪器设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

追风舒经活血片(吉林一正药业集团有限公司,规格:0.2 g/片,批号:131202、131211、131215);羌活醇(批号:111820-201102,纯度:99.8%)、异欧前胡素(批号:110827-201109,纯度:99.6%)、蛇床子素(批号:110822-200407)、二氢欧山芹醇当归酸酯(批号:111583-200603)对照品均购于中国食品药品检定研究院;冰醋酸(色谱纯,广州化学试剂二厂);乙腈(色谱纯,天津市康科德科技有限公司);水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Hypersil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)^[2]-0.05%冰醋酸溶液(B),梯度洗脱(0~17 min, 35% A;

18~30 min, 35%→50% A; 31~54 min, 50% A); 检测波长: 0~30 min 为 310 nm (检测羌活醇和异欧前胡素)^[3-7], 31~54 min 为 330 nm (检测蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯)^[8-10]; 流速: 0.8 ml/min, 柱温: 35 ℃。在此条件下所测定组分与其他组分的分离效果良好; 理论板数按羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯色谱峰计算均不低于 3 500, 分离度均 > 2。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取 4 种对照品各适量, 加 75% 甲醇溶解并制成羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的质量浓度分别为 0.027 8、0.018 4、0.059 2、0.012 6 mg/ml 的混合对照品溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品适量, 除去糖衣, 研细, 取约 4.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 50 ml, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率: 250 W, 频率: 30 kHz) 50 min, 再称定质量, 用 75% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 阴性对照试验

按处方比例称取除羌活以外的其余药味和除独活以外的其余药味各一份, 按制备工艺分别制成阴性样品, 再按“2.3”项下方法制成羌活阴性对照溶液和独活阴性对照溶液。精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液、羌活阴性对照溶液及独活阴性对照溶液各 10 μl, 按上述色谱条件进行色谱分析。结果显示, 供试品色谱中, 在与羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯对照品相同保留时间处呈现相应的色谱峰, 阴性对照色谱中相应保留时间处未呈现该吸收峰, 表明阴性对照无干扰。色谱见图 1。

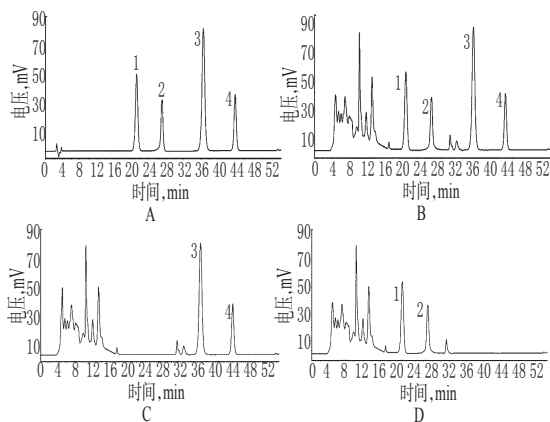


图 1 高效液相色谱图

A. 混和对照品; B. 供试品; C. 羌活阴性对照; D. 独活阴性对照; 1. 羌活醇; 2. 异欧前胡素; 3. 蛇床子素; 4. 二氢欧山芹醇当归酸酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed control; B. test sample; C. *Notopterygium incisum* negative control; D. *Heracleum hemsleyanum* negative control; 1. notopterol; 2. isoimperatorin; 3. osthol; 4. columbianadin

2.5 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 1、5、10、15、20 μl, 按上述色谱

条件进样测定, 记录峰面积。以峰面积积分值(y)为纵坐标, 对照品进样量(x)为横坐标, 分别绘制标准曲线, 得羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的回归方程分别为 $y=2.354 8 \times 10^6 x + 357.1$ ($r=0.999 5, n=5$)、 $y=1.597 3 \times 10^6 x - 241.2$ ($r=0.999 4, n=5$)、 $y=3.249 2 \times 10^6 x - 621.5$ ($r=0.999 8, n=5$)、 $y=2.689 4 \times 10^6 x + 267.6$ ($r=0.999 3, n=5$)。结果表明, 羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的进样量分别在 0.027 8~0.556 0、0.018 4~0.368 0、0.059 2~1.184 0 g、0.012 6~0.252 0 μg 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.6 精密度试验

取混合对照品溶液适量, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 记录峰面积。结果, 羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯峰面积的 RSD 分别为 0.48%、0.82%、0.37%、0.94% (n 均为 6), 表明仪器具有良好的精密度。

2.7 重复性试验

取同一批样品适量, 按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算样品含量。结果, 样品中羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的平均含量分别为 0.345、0.232、0.747、0.153 mg/g, RSD 分别为 0.65%、0.76%、0.51%、0.83% (n 均为 6), 表明本方法具有良好的重复性。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液, 分别于放置 0、2、4、8、12、24 h 后精密吸取 10 μl, 按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯峰面积的 RSD 分别为 0.53%、0.46%、0.75%、0.66% (n 均为 6), 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.9 加样回收率试验

取已知含量(羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的含量分别为 0.346、0.232、0.748、0.154 mg/g) 的同一批样品适量, 共 6 份, 除去糖衣, 研细, 取约 2.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入混合对照品溶液 25 ml、75% 甲醇 25 ml, 分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

2.10 样品含量测定

取 3 批样品各适量, 分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰面积计算样品中羌活醇、异欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的含量, 结果见表 2。

3 讨论

羌活和独活为方中臣药, 其中羌活具有解表散寒、祛风除湿、止痛的功效, 可用于风寒感冒、头痛项强、风湿痹痛、肩背酸痛等证的治疗; 独活具有祛风除湿、通痹止痛的功效, 可用于风寒湿痹、腰膝疼痛、少阴伏风头痛、风寒挟湿头痛等证的治疗。羌活醇、异欧前胡素为羌活的主要成分, 蛇床子素、二

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests (n=6)

对照品	称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
羌活醇	2.010 8	0.695 7	0.695 0	1.376 0	97.88	98.69	0.86
	2.009 4	0.695 3	0.695 0	1.382 0	98.81		
	1.995 2	0.690 3	0.695 0	1.369 0	97.65		
	2.011 9	0.696 1	0.695 0	1.381 0	98.54		
	2.007 6	0.694 6	0.695 0	1.388 0	99.77		
	2.021 3	0.699 4	0.695 0	1.391 0	99.52		
异欧前胡素	2.010 8	0.466 5	0.460 0	0.911 2	96.67	96.92	0.62
	2.009 4	0.466 2	0.460 0	0.911 9	96.89		
	1.995 2	0.462 9	0.460 0	0.909 1	97.00		
	2.011 9	0.466 8	0.460 0	0.917 3	97.93		
	2.007 6	0.465 8	0.460 0	0.907 8	96.09		
	2.021 3	0.468 9	0.460 0	0.914 8	96.93		
蛇床子素	2.010 8	1.504 0	1.480 0	2.979 0	99.66	99.13	0.95
	2.009 4	1.503 0	1.480 0	2.976 0	99.53		
	1.995 2	1.492 0	1.480 0	2.954 0	98.78		
	2.011 9	1.505 0	1.480 0	2.978 0	99.53		
	2.007 6	1.502 0	1.480 0	2.943 0	97.36		
	2.021 3	1.512 0	1.480 0	2.991 0	99.93		
二氢欧山芹醇当归酸酯	2.010 8	0.309 7	0.315 0	0.614 3	96.70	97.79	1.38
	2.009 4	0.309 4	0.315 0	0.617 8	97.90		
	1.995 2	0.307 3	0.315 0	0.611 9	96.70		
	2.011 9	0.309 8	0.315 0	0.615 0	96.89		
	2.007 6	0.309 2	0.315 0	0.619 2	98.41		
	2.021 3	0.311 3	0.315 0	0.626 7	100.13		

表2 样品含量测定结果(mg/片, n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples (mg/片, n=3)

批号	羌活醇	异欧前胡素	蛇床子素	二氢欧山芹醇当归酸酯
131202	0.069	0.046	0.150	0.031
131211	0.062	0.045	0.156	0.034
131215	0.074	0.049	0.152	0.032

氢欧山芹醇当归酸酯为独活的主要成分,故本试验采用HPLC法对羌活中羌活醇、异欧前胡素和独活中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯进行含量测定,对完善本品的质量标准具有重要的意义。

试验中对超声提取时间(40、50、60 min)进行了考察,发现

超声50 min和60 min的提取结果相差不大,而超声40 min时的样品含量明显低于超声50 min,故确定超声提取时间为50 min。

综上所述,本方法准确、灵敏、重复性好,可用于追风舒经活血片的质量控制。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂: 第四册[S]. 1998:85.
- [2] 陈慧明,沈雪梅,张超,等. 复方独活胶囊含量测定方法研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(3): 32.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 170-171、246、附录30、附录36.
- [4] 傅予,刘庆焕,王文彤. HPLC法测定养血生发胶囊中5种活性成分[J]. 现代药物与临床, 2013, 28(2): 188.
- [5] 张恩源,李福安. RP-HPLC法同时测定青海野生和栽培宽叶羌活中阿魏酸和异欧前胡素含量方法的研究[J]. 青海医学院学报, 2012, 33(2): 103.
- [6] 杨安东,马艳,王筋,等. 人工栽培羌活中异欧前胡素的含量测定[J]. 中国药房, 2006, 17(15): 1 172.
- [7] 陈燕,易进海,刘云华,等. 中药羌活质量标准研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5): 945.
- [8] 奚建,李建利,杨珊,等. HPLC法测定痹痛贴中蛇床子素与二氢欧山芹醇当归酸酯的含量[J]. 成都中医药大学学报, 2013, 36(3): 31.
- [9] 石燕红,赵森森,王瑞,等. RP-HPLC同时测定独活中蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的含量[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(16): 1 270.
- [10] 李玉兰,高美华. HPLC同时测定独活中蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯含量[J]. 中国医药指南, 2010, 8(19): 59.

(收稿日期:2013-12-24 修回日期:2014-02-26)

国家中医药管理局基层卫生司要求持续推进基层中医药服务能力提升工程

本刊讯 2014年7月10日,国家中医药管理局召开基层中医药服务能力提升工程推进工作视频会,基层卫生司有关负责人参加会议,并对加强基层中医药工作提出5点要求:(1)落实中医科室建设。在基层医疗卫生机构改扩建过程中,要按照乡镇卫生院、社区卫生服务中心等基本标准,建设标准化的中医科室,有条件的机构可设置相对独立的中医服务区域,优化服务环境。同时配置相应的服务设备,着力提升基层中医药服务能力。(2)落实中医药人才培养培训。一方面通过引进中医毕业生、聘请退休中医人才、名中医多点执业等方式补充基层中医药人才;另一方面要加大培训力度,提升服务质量,并在基层医疗卫生机构中广泛普及中医药知识,选派西医接受中医培训,促进中医和西医人才的交流沟通与技术合作。

(3)落实中医药适宜技术推广。各地要大力推广普及中医药适宜技术,将针灸、拔罐、刮痧等比较成熟的中医药服务纳入乡镇卫生院、社区卫生服务中心的重点发展内容。同时发挥行业组织优势,开发易操作、可推广、受群众欢迎的中医药适宜技术。(4)落实中医药基本公共卫生服务项目。各省级基层卫生部门要配合中医药管理部门推动落实《中医药健康管理服务规范》,发挥中医药专业机构对基层医疗卫生机构的业务指导作用,提高基层中医药健康管理的服务水平。(5)落实“新农合”报销政策。各地要落实好将适宜的中医诊疗项目和中药纳入“新农合”支付范围,并逐步提高“新农合”中医报销比例。探索研究中医优势病种打包定价和付费方式改革等试点,加大对中医药服务的支持力度。