

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.11.018

高效液相色谱法同时测定前胡药材中白花前胡甲素 和 白花前胡乙素含量*

邱明鸣, 朱育凤, 倪昌荣[△]

(江苏省中医院, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 建立同时测定前胡药材中指标性成分白花前胡甲素和 白花前胡乙素含量的高效液相色谱法。方法 共收集安徽、浙江、四川、湖南等地产的 31 批前胡药材样品, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB - C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为水 - 甲醇(25:75, V/V), 流速为 1 mL/min, 柱温为 25 ℃, 检测波长为 321 nm, 进样量为 10 μL。结果 白花前胡甲素和 白花前胡乙素的质量浓度分别在 3.880 2~248.333 3 μg/mL($r=0.999\ 8, n=5$)和 1.888 0~120.833 3 μg/mL($r=0.999\ 9, n=5$)范围内与峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0%;平均加样回收率分别为 98.93% 和 99.66%, RSD 分别为 1.64% 和 1.79%($n=6$)。白花前胡甲素和 白花前胡乙素的含量分别为 0.62%~1.63% 和 0.06%~0.59%;按 2020 年版《中国药典(一部)》规定, 白花前胡甲素含量合格的样品有 24 批(77.42%), 白花前胡乙素含量合格的样品有 10 批(32.26%), 2 种成分含量均合格的样品仅 9 批(29.03%)。结论 该方法操作简便、结果准确、重复性好, 可用于同时测定前胡药材中白花前胡甲素和 白花前胡乙素的含量。市售前胡药材质量参差不齐, 合格率低, 需要一个切合实际的质量控制方法来评价、控制其质量。

关键词:前胡药材; 高效液相色谱法; 白花前胡甲素; 白花前胡乙素; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)11-0070-04

Simultaneous Determination of Praeruptorin A and Praeruptorin B in Peucedani Radix by HPLC

QIU Mingming, ZHU Yufeng, NI Changrong

(Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210029)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of the index ingredients including praeruptorin A and praeruptorin B in Peucedani Radix. **Methods** Thirty-one batches of Peucedani Radix samples from Anhui, Zhejiang, Sichuan and Hunan were collected. The chromatographic column was Agilent Eclipse XDB - C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was water - methanol (25:75, V/V), the flow rate was 1 mL/min, the column temperature was 25 ℃, the detection wavelength was 321 nm and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of praeruptorin A and praeruptorin B were 3.880 2 - 248.333 3 μg/mL ($r=0.999\ 8, n=5$) and 1.888 0 - 120.833 3 μg/mL ($r=0.999\ 9, n=5$), respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2.0%. The average recoveries of praeruptorin A and praeruptorin B were 98.93% and 99.66% with RSDs of 1.64% and 1.79% ($n=6$), respectively. The contents of praeruptorin A and praeruptorin B were 0.62% - 1.63% and 0.06% - 0.59%, respectively. There were 24 batches (77.42%) of samples with qualified content of praeruptorin A, 10 batches (32.26%) of samples with qualified content of praeruptorin B and only nine batches (29.03%) of samples with qualified content of the above two ingredients according to the requirements of the Chinese Pharmacopoeia (2020 Edition, Volume I). **Conclusion** The method is simple, accurate and reproducible, which can be used for the simultaneous determination of praeruptorin A and praeruptorin B in Peucedani Radix. The commercially available Peucedani Radix has uneven quality and low qualified rate, which needs a practical quality control method to evaluate and control its quality.

Key words: Peucedani Radix; HPLC; praeruptorin A; praeruptorin B; content determination

前胡为常用化痰止咳药,始载于《名医别录》,临床应用历史悠久,具有降气化痰、散风清热功效,主要用于治疗痰热喘满、咯痰黄稠、风热咳嗽痰多等^[1]。前胡为伞形科植物白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunn 的干燥根,含有香豆素类、挥发油、黄酮、色原酮、苯丙衍

生物等化学成分^[2-7],具有镇咳祛痰、抗心脑血管缺血、抗心衰、抗氧化、降血压等作用^[8-9]。姚蓉等^[10]对湖南市场的前胡药材进行检测,结果 14 批药材中含量符合药典标准的仅占 35.71%。市售前胡药材按照 2020 版《中国药典(一部)》含量测定方法进行检测,大部分达不到药

*基金项目:江苏省中医院 2021 年度院级课题药学部专项项目[Y21033]。

第一作者:邱明鸣,男,硕士研究生,主管中药师,研究方向为中药炮制与中药资源,(电子信箱)252766405@qq.com。

[△]通信作者:倪昌荣,男,硕士研究生,副主任中药师,研究方向为中药鉴定,(电子信箱)565143447@qq.com。

典要求,说明现行标准需要改进和完善。本研究中收集安徽、浙江、四川、湖南等地产的31批前胡药材样品,以白花前胡甲素和白花前胡乙素为指标性成分,参考2020年版《中国药典(一部)》前胡含量测定项下方法,建立了测定上述2种成分含量的高效液相色谱法,为制订前胡药材的质量标准提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配有 G1312B 型二元泵、G1367E 型高性能自动进样器、G1316A 型柱温箱、G4212B 型二极管阵列检测器、G1322A 型脱气机;AX224ZH / E 型电子天平(常州奥豪斯仪器有限公司,精度为十万分之一);KQ - 1000 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为 300 W,频率为 40 kHz)。

1.2 试药

白花前胡甲素标准品(批号为 B20035),白花前胡乙素标准品(批号为 B20037),均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度均不低于 98%;甲醇(色谱纯,Merck Lichrosolv Reag. ph eur,批号为 jc20213088);其他试剂均为分析纯,水为纯净水。前胡药材样品经江苏省中医院朱育凤主任中药师鉴定为正品,样品信息见表 1。

表 1 31 批前胡药材样品信息

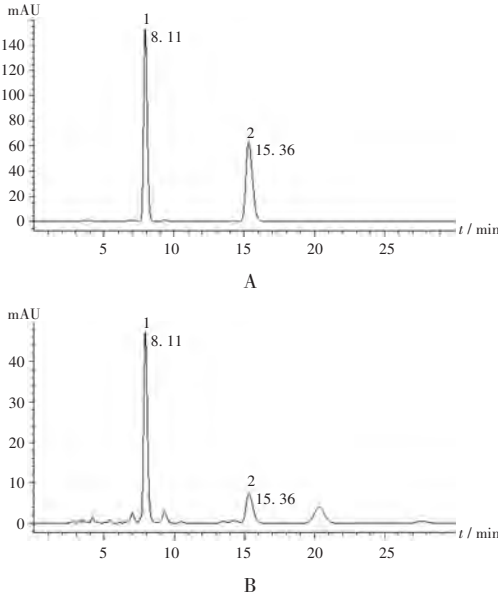
Tab.1 Information of 31 batches of Peucedani Radix samples					
序号	产地	批号	序号	产地	批号
1	浙江磐安	20201101	17		20201215
2		20201126	18		20201219
3		20201208	19		20201225
4		20210318	20		20210109
5	浙江淳安	20201123	21	四川乐至	20210102
6		20201210	22	四川合江	20210103
7		20201211	23	四川达州	20200818
8		20201209	24	四川泸州	20200820
9	安徽绩溪	20201112	25	四川巴中	20200822
10	安徽金寨	20201214	26	贵州铜仁	20201221
11	安徽宁国	20200812	27	贵州遵义	20201223
12		20200816	28	湖南怀化	20200810
13		20201109	29	河南信阳	20201218
14		20201116	30		20201202
15		20201118	31		20201205
16		20200823			

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent Eclipse - XDB - C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:水 - 甲醇(25:75, V/V);流速:1 mL/min;柱温:25℃;检测波长:321 nm;进样量:10 μL。

理论板数按白花前胡甲素峰计应不低于 3 000,色谱图见图 1。可见,供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相应保留时间处有色谱峰出现。



1. 白花前胡甲素 2. 白花前胡乙素
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. Praeruptorin A 2. Praeruptorin B

A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig.1 HPLC chromatograms

2.2 溶液制备

取前胡药材样品粉末(过 3 号筛)0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入三氯甲烷 25 mL,密塞,称定质量,超声(功率为 250 W,频率为 33 kHz)10 min,放冷,再称定质量,用三氯甲烷补足减失的质量,摇匀,滤过;精密量取续滤液 5 mL,蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 25 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,离心(转速为 3 000 r/min)10 min,取上清液,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。取白花前胡甲素标准品 1.49 mg 和白花前胡乙素标准品 1.45 mg,精密称定,加甲醇 5 mL 使溶解,配制成质量浓度分别为 0.298 mg/mL 和 0.290 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液适量,按倍比稀释法(分别稀释 2 倍、10 倍、50 倍、100 倍、625 倍)稀释成系列浓度对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、色谱峰峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $Y_{\text{甲}} = 16\,504 X_{\text{甲}} + 9.579\,3$ ($r = 0.999\,8$, $n = 5$) 和 $Y_{\text{乙}} = 15\,112 X_{\text{乙}} + 28.403\,1$ ($r = 0.999\,9$, $n = 5$)。结果表明,白花前胡甲素和白花前胡乙素质量浓度分别在 3.880 2 ~ 248.333 3 μg/mL 和 1.888 0 ~

120.833 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.2项下混合对照品溶液10 μL ,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果白花前胡甲素和白花前胡乙素峰面积的 RSD 分别为0.22%和0.15%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为20201126)0.5 g,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于0,2,4,6,8,10,12 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果白花前胡甲素和白花前胡乙素峰面积的 RSD 分别为1.37%和1.08%($n=7$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为20201126)0.5 g,精密称定,共6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量分别为1.16%和0.15%, RSD 分别为0.57%和0.82%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为20201126)粗粉(过3号筛)0.5 g,精密称定,共6份,分别加入白花前胡甲素和白花前胡乙素对照品适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表2。

表2 加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.040 5	0.099 8	0.042 0	0.106 6	0.081 2	0.207 3	96.90	100.84				
0.036 3	0.101 4	0.042 0	0.106 6	0.077 4	0.205 5	97.86	97.65				
0.031 6	0.096 8	0.042 0	0.106 6	0.073 4	0.205 2	99.52	101.69	98.93	99.66	1.64	1.79
0.034 8	0.097 6	0.042 0	0.106 6	0.076 7	0.204 3	99.76	100.09				
0.034 2	0.098 8	0.042 0	0.106 6	0.076 8	0.202 5	101.43	97.28				
0.039 2	0.098 4	0.042 0	0.106 6	0.080 4	0.205 4	98.10	100.38				

注:A为白花前胡甲素,B为白花前胡乙素。表3同。

Note: A refers to praeruptorin A and B refers to praeruptorin B (for Tab. 2-3).

2.4 样品含量测定

取31批前胡药材样品粗粉(过3号筛)各0.5 g,精密称定,每批各取3份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算干燥样品中白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量。结果见表3。

3 讨论

本研究中收集的31批前胡药材样品来自安徽、浙江、四川、湖南等地,所建立的含量测定方法与2020年版《中国药典(一部)》前胡含量测定项下方法一致,规定按干燥品计算,含白花前胡甲素($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_7$)不得少于

表3 前胡药材样品含量测定结果($\%,n=3$)

Tab. 3 Results of content determination of praeruptorin A and praeruptorin B in the Peucedani Radix samples ($\%,n=3$)

批号	A	B	合计	批号	A	B	合计
20201101	1.03	0.21	1.24	20201215	0.76	0.16	0.92
20201126	1.16	0.15	1.31	20201219	0.62	0.08	0.70
20201208	1.07	0.25	1.32	20201225	1.03	0.23	1.26
20210318	1.11	0.29	1.40	20210109	1.54	0.31	1.85
20201123	1.14	0.21	1.35	20210102	1.14	0.06	1.20
20201210	1.04	0.13	1.17	20210103	1.02	0.14	1.16
20201211	0.63	0.14	0.77	20200818	0.87	0.18	1.05
20201209	0.76	0.37	1.13	20200820	1.13	0.22	1.35
20201112	1.17	0.31	1.48	20200822	1.37	0.22	1.59
20201214	1.10	0.16	1.26	20201221	0.95	0.24	1.19
20200812	1.41	0.59	2.00	20201223	1.63	0.52	2.15
20200816	1.21	0.23	1.44	20200810	0.92	0.22	1.14
20201109	0.78	0.14	0.92	20201218	1.41	0.29	1.70
20201116	0.76	0.11	0.87	20201202	0.92	0.15	1.07
20201118	1.09	0.23	1.32	20201205	1.02	0.12	1.14
20200823	0.96	0.28	1.24				

0.90%,含白花前胡乙素($\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_7$)不得少于0.24%。由表3可知,31批前胡药材样品中,有24批白花前胡甲素含量合格,合格率为77.42%;仅10批白花前胡乙素含量合格,合格率为32.26%;白花前胡甲素和白花前胡乙素含量均合格的仅9批,占29.03%。按现行标准,70.97%的前胡药材判定为劣药,不能使用,前胡药材合格率低,无法满足临床用药需求。

若以2020年版《中国药典(一部)》前胡含量检测项下要求的白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量之和(1.14%)为依据,则有23批合格,占74.19%,合格率大大提高,可缓解临床用药问题,故建议《中国药典(一部)》中以白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量之和1.14%设限,修订前胡含量测定项下标准。类似的不同产地药材质量的研究还有很多^[11-13],部分研究是在实际工作中发现问题,并进一步进行验证。如在实际工作中发现莲子心含量合格率低,王协和等^[14]也做了相关研究,2020年版《中国药典(一部)》将莲子心的含量测定成分从莲心碱修订为甲基莲心碱后,莲子心含量基本能合格。王琦等^[15]分析了大孔吸附树脂和离子交换树脂在药品检验标准中的应用情况,提出《中国药典》药品标准中需进一步规范树脂的使用,以提高标准的可行性。

综上所述,市售前胡药材质量参差不齐,合格率低,需要一个切合实际的质量控制方法来评价和控制其质量,以满足临床用药需求,可为2025年版《中国药典(一部)》中前胡相关标准的修订提供数据支持。