

# 祛痰化痰胶囊中橙皮甙含量测定

崔淑莲 王宇辉\* 杨立新 牛小红\* 刘岱 徐思康\*\*

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

**摘要** 建立大孔树脂-反相高效液相色谱法,测定制剂中橙皮甙的含量,采用 ZORBAK RX-C<sub>18</sub>柱,流动相为甲醇-水-冰醋酸(36:62:2),检测波长 283nm,经测定标准曲线的线性范围 0.2 $\mu$ g~1.0 $\mu$ g,平均回收率 97.8%,相对标准偏差为 1.4%。3批样品含量为 2.08、2.20、2.30mg/粒。

**关键词** 大孔树脂 高效液相色谱法 橙皮甙 祛痰化痰胶囊

## Determination of Hesperidin Content in Qutan Huayu Capsule

Cui Shulian, Wang Yuhui, Yang Lixin, Niu Xiaohong, Liu Dai

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

Xu Sikang (Henan Institute for Drug Control, Zhengzhou, 450003)

**Abstract:** The method of macroporous resin-reverse phase HPLC was set up to detect hesperidin content in the preparation ZORBAK RX-C<sub>18</sub> column was employed and methanol-water-glacial acetic acid (36:62:2) was used as mobile phase. Detecting wavelength was 283nm. Through determination, the linearity limits of the calibration curve was between 0.2 $\mu$ g~1.0 $\mu$ g. And the average recovery was 97.8% with RSD1.4%. The results of three batches of the samples were 2.08, 2.20, 2.30mg/capsule, respectively.

**Key words:** macroporous resin, HPLC, hesperidin, qutan huayu capsule

祛痰化痰胶囊由法半夏、陈皮、川芎、水蛭及茯苓组成。经过药效学研究,发现其具有调脂、抗氧化、保护血管内皮细胞和抗动脉粥样硬化形成等多种功能<sup>[1]</sup>。临床预试也显示出良好的效果。为使科研成果尽快转化为新产品,故对制剂质量进行研究。橙皮甙为陈皮的主要成分,具有降脂及降低血细胞凝聚等作用,故选用橙皮甙作为质控指标。橙皮甙含量测定方法有紫外分光光度法<sup>[2]</sup>,薄层扫描法<sup>[3]</sup>,高效液相法<sup>[4]</sup>。本文采用高效液相法,又根据本制剂杂质较多的特点,我们以甲醇提取,大孔树脂吸附,分别以水、17%甲醇、2%吡啶甲醇洗脱,以净化样品,再行高效液相色谱分析,取得良好的定量效果,从而为该制剂和其它含橙皮甙的复方制剂的质控提供了可靠的

方法学依据。

## 1 实验材料

**1.1 药品和试剂** 对照品橙皮甙购自中国药品生物制品检定所,批号 721-9405,经高效液相色谱检测,纯度为 98%;甲醇(优级纯),冰醋酸(分析纯),为北京化工厂出品;超纯水;D-101型大孔树脂 20~60目,购自天津农药厂。祛痰化痰胶囊 3批,由中国中医研究院基础所提供。

**1.2 仪器** 岛津 LC-4A 高效液相色谱仪、岛津 CR-4A 数据处理机及 SPD-2A 型可变波长检测器。

## 2 实验方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 ZORBAK RX-C<sub>18</sub> (4.6mm×25cm),粒度 5 $\mu$ m;流动相为甲醇-水-冰醋酸(36:62:2),柱温为室温,灵敏度 0.08,检测波长 283nm,流速 0.8ml/min,分离度大于 1.5,理论塔板数按橙皮甙峰计算

\* 中国中医研究院基础理论研究所 北京 100700

\*\* 河南省药品检定所 郑州 450003

为 2500。

**2.2 标准曲线绘制** 精密称取在 110℃ 干燥至恒重的橙皮甙对照品 5mg, 置 25ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成对照品溶液。分别吸取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 $\mu$ l, 连续进样 3 次, 以进样量为横坐标( $x$ ), 峰面积为纵坐标( $Y$ ), 绘制标准曲线, 回归方程为  $Y = -1422.7 + 387856.5x$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围 0.2 $\mu$ g~1 $\mu$ g 之间。

**2.3 精密度测定** 精密吸取橙皮甙对照品溶液 2 $\mu$ l, 重复进样 5 次, 平均峰面积为 154506,  $RSD = 1.0\%$ 。

**2.4 供试品溶液制备** 取本品 1g, 精密称定, 置索氏提取器中, 以乙醚脱脂 2h 后, 药渣挥干, 加甲醇 80ml, 回流提取 5h, 适量回收溶媒后, 转移至 25ml 量瓶中。以甲醇洗涤并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 1ml, 挥去溶媒, 以适量蒸馏水溶解, 注入已处理好的大孔树脂柱(内径 1.5cm, 柱长 9cm)上, 分别用水和 17% 甲醇各 125ml 洗脱, 弃去洗脱液, 再用 2% 吡啶甲醇洗脱, 收集洗脱液, 减压回收至干, 残渣以甲醇 5ml 溶解, 摇匀, 微孔膜(0.45 $\mu$ m)滤过, 滤液作为供试品溶液, 备用。

**2.5 稳定性试验** 将供试品溶液分别于制成后 0h~32h 内间隔一定时间测定 8 次, 峰面积在 148337~154029 之间波动,  $RSD = 1.82\%$ , 由此可见供试品溶液在制备后 32h 之内测定数据是可靠的。

**2.6 重现性试验** 取同一批号制剂, 按上述方法制成 5 份供试品溶液进行测定, 平均含量 2.08mg/粒,  $RSD = 2.8\%$ 。

**2.7 回收率试验** 采用加样回收法。精密称取已知含量的制剂 5 份, 每份 0.5g, 分别加入对照品约 3.5mg, 余按供试品溶液的制备和测定方法操作, 计算平均回收率为 97.8%,  $RSD = 1.4\%$ 。

**2.8 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液 2 $\mu$ l, 供试品溶液 10 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算 3 批成品中橙皮甙含量为

2.08、2.20、2.30mg/粒, 故暂定每粒橙皮甙含量不得低于 1.85mg/粒。

缺陈皮的空白样品经上述色谱条件检查, 在橙皮甙的相应位置上未见色谱峰。结果见附图。

### 3 讨论

**3.1 预处理** 制备中采用乙醚脱脂, 除去极性小的成分, 可使色谱分析时间大为缩短。

**3.2 提取方式的确定** 对提取方式进行比较, 发现超声处理制备供试品省工省时, 但脱脂后过滤, 样品易流失, 故采用索氏提取法。

**3.3 甲醇提取时间的确定** 设计甲醇回流提取 2、3、4、5、6h, 依法制备和测定样品结果依次为 1.8、2.0、2.0、2.2、2.2mg/粒, 故正文采用回流提取 5h。

**3.4 洗脱毫升的确定** 甲醇提取物蒸干, 水溶后注入大孔树脂, 分别依次用水、17% 甲醇、25% 甲醇洗脱, 均以 25ml 为 1 份, 共接收 5~6 份, 每份蒸干, 以 1ml 甲醇溶解进样, 结果以水和 17% 甲醇洗脱的第 1~4 份均有杂质峰, 无橙皮甙峰, 而 25% 甲醇洗脱则出现橙皮甙峰, 洗至 300ml 仍可见该峰, 后改用 2% 吡啶甲醇洗脱接收 3 份即将橙皮甙洗净, 从而确定了正文的操作方法。

### 参考文献

- 1 宋剑南, 周霞青, 朱小红, 等. 高脂血症与痰瘀的关系. 中医痰病研究与临床. 北京: 中国中医药出版社, 1995. 87
- 2 薛漓, 王宝琴. 三波长法测定二陈丸中橙皮甙的含量. 中成药, 1991, 13(2): 14
- 3 常珉, 蒋敏, 李安娟. 枳实及其三种中成药中橙皮甙的荧光薄层扫描定量法. 药物分析杂志, 1990, 10(2): 94
- 4 王铁军, 郭绪林, 张京平. 高效液相色谱法测定增生消散液中橙皮甙的含量. 中国中药杂志, 1997, 22(1): 32

(收稿: 1998-03-10)

