

HPLC 测定除湿养血胶囊中柚皮苷的含量

郭娜, 闫寒, 彭娟, 范斌, 聂颖兰*

(中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立除湿养血胶囊的质量标准。方法: 采用高效液相色谱法对除湿养血胶囊中的柚皮苷含量进行测定, Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 0.1% 醋酸水-甲醇(60:40), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 283 nm。结果: 柚皮苷在进样量 0.035 83 ~ 1.146 μg 线性关系良好($r = 0.999 9$), 平均加样回收率 98.9%, RSD 2.7%。结论: 方法简便快捷, 适于该制剂中柚皮苷的含量测定。

[关键词] 柚皮苷; 高效液相色谱; 除湿养血胶囊; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0143-03

[doi] 10.11653/syjf2013180143

Determination of Naringin in Chushi Yangxue Capsules by HPLC

GUO Na, YAN Han, PENG Juan, FAN Bin, NIE Ying-lan*

(Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC method for assay of naringin in Chushi Yangxue Capsules. **Method:** The content of naringin was determined by a HPLC method. The Diamonsil C₁₈(2) column was used. The mobile phase was 0.1% acetic acid-methanol (60:40) with 1.0 mL·min⁻¹ flow rate at 35 °C. The detection wavelength was set at 283 nm. **Result:** The linear range of naringin was 0.035 83-1.146 μg ($r = 0.999 9$). The average recovery was 98.9%, RSD was 2.7%. **Conclusion:** The method is simple and quick. It can be used as the determination method of naringin in Chushi Yangxue Capsules.

[Key words] naringin; HPLC; Chushi Yangxue Capsules; determination

除湿养血胶囊为医院自制制剂, 由当归、白术、首乌藤等多味药材制成的中药复方制剂, 具有健脾除湿、养血祛风、活血生发的功效, 可用于治疗脾虚湿盛, 血虚肌肤失养兼感风邪引起的皮肤病。本文采用高效液相色谱法测定除湿养血胶囊中柚皮苷的含量, 可用于除湿养血胶囊的质量控制。

1 材料

美国 Agilent1200 型高效液相色谱仪(G1311A 四元泵, G1329A 自动进样器, G1316A 柱温箱,

Agilent chemstation 化学工作站), 赛多利斯 arium® 61316/611VF 超纯水处理器, 赛多利斯 BT25S 型、BT423S 型分析天平, 电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司), Anke TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

甲醇(色谱纯), 乙酸(色谱纯)北京迪科马科技有限公司, 无水乙醇, 分析纯(北京化工厂), 超纯水为自制。柚皮苷(批号 110722-200610)由中国药品生物制品检定所提供。3 批除湿养血胶囊均由北京市朝阳区双安医院提供, 批号 100401, 100402, 100403。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 0.1% 醋酸水-甲醇(60:40)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 283 nm, 进样量 10 μL。

[收稿日期] 20120706(007)

[第一作者] 郭娜, 副研究员, 博士, 从事中药分析及体内药物分析研究, Tel: 010-64014411-3324, E-mail: nguona5246@126.com

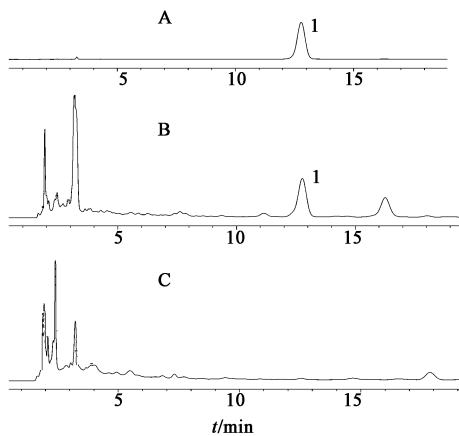
[通讯作者] * 聂颖兰, 助理研究员, 硕士, 从事中药分析及体内药物分析研究, Tel: 010-64014411-3324, E-mail: nyl100@163.com

2.2 对照品溶液制备 称取柚皮苷对照品适量,精密称定,于 5 mL 量瓶中,以甲醇为溶剂定容,制成每 1 mL 含柚皮苷 4.586 mg 的储备溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 称取胶囊内容物 0.4 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入无水乙醇 20 mL,称重,回流提取 30 min,放置室温,补重,离心 10 min(4 000 r·min⁻¹),精密吸取上清液 1 mL 至 5 mL 量瓶中,以流动相定容,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液即得供试品。

2.4 阴性供试品溶液的制备 按处方比例取除枳壳外的其他药材,以相同工艺制备,按 2.3 项下方法制成缺枳壳的阴性供试品溶液。

2.5 专属性试验 取柚皮苷对照品溶液,供试品溶液,阴性供试品溶液分别注入 HPLC 测定,记录色谱图。供试品色谱图中,在与对照品相应的位置上,有一相同保留时间的色谱峰,阴性供试品溶液无干扰,见图 1。



A. 对照品溶液;B. 供试品溶液;C. 阴性供试品溶液;1. 柚皮苷
图 1 除湿养血胶囊 HPLC 色谱

2.6 线性关系考察 精密吸取柚皮苷对照品储备溶液适量,以流动相为溶剂,配制系列质量浓度为 3.583,7.166,14.33,28.66,57.33,114.6 mg·L⁻¹ 的柚皮苷对照品溶液,测定峰面积,以对照品进样量为横坐标,以对照品峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。柚皮苷线性范围 0.035 83 ~ 1.146 μg,回归方程为 Y=1 681.7X-1.832 5 (r=0.999 9)。

2.7 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,在所确定的 HPLC 条件下,重复进样 6 次,求得峰面积平均值为 636.9, RSD 0.2%,表明该色谱条件精密度良好。

2.8 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,分别于 0,2,4,6,8,24 h 依次进样,测得柚皮苷的峰面积平均值为 635.5, RSD 0.3%,表明样品

在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验 取同一批样品按 2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在所确定的 HPLC 条件下进行测定,以外标一点法计算样品含量,结果平均含量 9.388 2 mg·g⁻¹, RSD 1.7%,表明方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 采用加样回收法,称取 8 份同一批号样品(批号 100401)各 0.4 g,精密称定。其中 6 份分别精密加入柚皮苷对照品(4.586 g·L⁻¹)溶液 0.8 mL,另外 2 份为随行样品,8 份样品均按 2.3 项下方法平行制备,以测得的随行的 2 份样品的平均含量(8.893 7 mg·g⁻¹)为样品中柚皮苷的含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 除湿养血胶囊中柚皮苷加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD %
1	0.401 8	3.573 5	7.220 3	99.4	98.9	2.7
2	0.400 7	3.563 7	7.115 1	96.8		
3	0.399 1	3.549 5	7.042 2	95.2		
4	0.401 1	3.567 3	7.335 1	102.7		
5	0.395 9	3.521 0	7.138 5	98.6		
6	0.400 6	3.562 8	7.250 0	100.5		

注:加入量均为 3.668 8 mg。

2.11 样品含量测定 分别取 3 批样品,批号分别 100401,100402,100403,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按外标一点法计算供试品的柚皮苷的含量,测得 3 批样品中平均含量为 8.882 4,9.047 7,9.048 1 mg·g⁻¹。

3 讨论

方中含枳壳^[1-3],柚皮苷为枳壳的主要成分,故选用柚皮苷的含量来控制该制剂的质量^[4]。尝试以多成分含量测定控制该制剂的质量,方中含首乌藤^[5-6],其主要成分为大黄素^[7],对除湿胶囊内容物分别采用了无水乙醇、氯仿、乙酸乙酯以及先醇提再酸解再氯仿提取的处理方法,均未检出大黄素。方中含川芎^[8],以川芎嗪为检测对象,胶囊内容物也未检出川芎嗪。故最后仍然以单一成分柚皮苷的 HPLC 含量测定来控制该制剂的质量。

考察了回流提取与超声提取^[9-10],回流提取测得供试品含量为 8.563 3 mg·g⁻¹,超声提取测得含量为 4.018 0 mg·g⁻¹,结果显示,回流提取效率明显高于超声提取。考察了回流提取的时间分别为 20,30,45,50,60min,提取效率无明显的差异,故选择

HPLC 测定丝瓜根药材中常春藤皂苷元的含量

李才堂, 谢欢, 张娣, 宋友昕*

(江西省中医药研究院, 南昌 330046)

[摘要] 目的: 测定丝瓜根药材中常春藤皂苷元的含量。方法: 采用 HPLC, Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(钻石)(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(85:15:0.04:0.02)为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 210 nm, 柱温 35 ℃。结果: 常春藤皂苷元在 0.563 2~5.632 μg 线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 加样回收率 97.49%, RSD 1.86% ($n=6$), 重复性 RSD 1.73% ($n=6$)。结论: 方法简便可行, 重复性好, 可用于丝瓜根药材的质量控制。

[关键词] 丝瓜根; 常春藤皂苷元; 含量测定; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0145-03

[doi] 10.11653/syjf2013180145

Determination of Hederagenin in Root of *Luffa cylindrica*

LI Cai-tang, XIE Huan, ZHANG Di, SONG You-xin*

(Jiangxi Institution of Trational Chinese Medical and Pharmaceutical Science, Nanchang 330046, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of hederagenin in root of *Luffa cylindrica*. **Method:** HPLC was performed with chromatographic conditions as follows: Dikma Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with column temperature at 35 ℃, the mobile phase of methanol-water-glacial acetic acid-triethylamine (85:15:0.04:0.02), flow rate at 1 mL·min⁻¹, and the detection wavelength at 210 nm. **Result:** The linearity of hederagenin was good in the range of 0.563 2-5.632 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 97.49%, RSD was 1.86%. RSD of repeatability was 1.73% ($n=6$) **Conclusion:** The method is simple,

[收稿日期] 20111128(002)

[第一作者] 李才堂, 副研究员, 硕士学位, 从事天然产物活性成分研究, Tel:0791-88594852, E-mail: Lict963@sina.com

[通讯作者] * 宋友昕, 副主任药师, 从事中药新药开发研究, E-mail: youxin-song@163.com

了提取时间 30 min。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 171.
- [2] 张金莲, 何敏, 谢一辉, 等. 高效液相色谱法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 68.
- [3] 潘隽丽, 杨翠平, 苏薇薇, 等. 枳壳类药材的研究概况[J]. 中药材, 2003, 26(10): 768.
- [4] 杨胜, 张定堃, 苏柘僮, 等. 中药复方制剂质量控制的研究[J]. 中国医药生物技术, 2010, 5(5): 387.
- [5] 杨林, 徐挺, 唐尧. RP-HPLC 测定首乌藤中大黄素的含量[J]. 华西药理学杂志, 2005, 20(6): 554.

- [6] 刘祖贞, 谭朝阳. 安乐片质量标准研究[J]. 中医药导报, 2007, 13(9): 73.
- [7] 朱艳容, 李媛媛, 李先荣, 等. RP-HPLC 法测定扶正固本颗粒中大黄素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 69.
- [8] 郭允, 张琨, 洪博, 等. RP-HPLC 法同时测定坎离砂中阿魏酸和川芎嗪的含量[J]. 河南职工医学院学报, 2010, 22(2): 115.
- [9] 滕建业, 孟宪生, 韩凌, 等. 枳壳中柚皮苷提取工艺的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 34.
- [10] 季忆, 陈建真, 陈建明, 等. 枳壳黄酮类成分的研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(11): 105.

[责任编辑 顾雪竹]