

HPLC 测定女金丸中橙皮苷的含量

戴敬¹, 郝培培², 杨晓婧², 贾玉捷², 冯丽¹, 李建晨^{2*}

(1. 河北省药品检验所, 石家庄 050011; 2. 河北科技大学, 石家庄 050018)

[摘要] 目的:建立女金丸(蜜丸、水蜜丸)中橙皮苷的含量测定方法。方法:利用 HPLC 测定女金丸中橙皮苷的含量。采用岛津 Shim-pack VP-ODS 色谱柱(6.0 mm × 150 mm, 5 μm), 甲醇-乙腈-0.1% 磷酸溶液(12:13:75)为流动相, 检测波长 284 nm。结果:橙皮苷在 0.02 ~ 4.9 μg 线性关系良好($r = 0.9999$), 大蜜丸和水蜜丸的平均回收率分别为 102.0% (RSD 1.3%, $n = 9$) 和 96.1% (RSD 1.3%, $n = 9$)。结论:该方法简便, 准确, 重复性好, 适用于女金丸的质量控制。

[关键词] 女金丸; 橙皮苷; 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(2011)16-0078-04

Determination of Hesperidin in Nvjn Pills by HPLC

DAI Jing¹, HAO Pei-pe², YANG Xiao-jing², JIA Yu-jie², FENG Li¹, LI Jian-chen^{2*}

(1. Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China;

2. Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a determination method of hesperidin in Nvjn pills. **Method:** Hesperidin in Nvjn pills was determined by HPLC, using a Shim-pack VP-ODS column(6.0 mm × 150 mm, 5 μm), with a mobile phase as methanol-acetonitrile-0.1% phosphoric acid (12:13:75), and a UV detector at 284 nm wavelength. **Result:** Hesperidin showed good linearity from 0.02 μg to 4.9 μg ($r = 0.9999$). The average recovery of big honeyed pills and water-honeyed pills were 102.0% (RSD 1.3%, $n = 9$) and 96.1% (RSD 1.3%, $n = 9$) respectively. **Conclusion:** The method was simple, accurate, and with good reproducibility. It can be used well as quality control for Nvjn pills.

[Key words] Nvjn pills; hesperidin; HPLC

女金丸由当归、白芍、陈皮、肉桂、益母草等 23 味中药组成, 具有调经养血、理气止痛的功效, 用于营血不足、气滞血瘀所致的月经不调、痛经、小腹胀痛、腰腿酸痛等。女金丸收载于《中国药典》2005 年版, 有大蜜丸和水蜜丸两种剂型, 由于处方中药味多, 用量相对平均, 相互干扰严重, 现行质量标准中无含量测定方法, 为了更好地控制该药的质量, 为

2010 年版《中国药典》增加含量测定项提供依据。本实验尝试用高效液相色谱法对女金丸中橙皮苷进行含量测定, 所建立的方法简便、准确、重复性好, 为控制女金丸的内在质量提供了有效手段。

1 仪器与试剂

1.1 试剂试药 橙皮苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 110721-200512, 110721-200613)。甲醇、乙腈均为色谱纯; 水为纯化水; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与色谱柱 美国 Agilent 1100 HPLC 仪; 日本岛津 LC-20AT, LC-AHT HPLC 仪; 戴安 Ultimate 3000; Shim-pack VP-ODS (6.0 mm × 150 mm, 5 μm); Diamonsil C₁₈(2) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Alltima HP-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。

[收稿日期] 2011-04-14

[基金项目] 2010 年版《中国药典》修订项目(ZH-343)

[第一作者] 戴敬, 主任药师, 从事药品检验与检验方法研究, Tel: 0311-85212012, E-mail: daijing666@ yahoo.com.cn

[通讯作者] * 李建晨, 博士, 副教授, Tel: 0311-88632427, E-mail: lijianchen152@hotmail.com

UV-2450型岛津紫外分光光度仪。

1.3 女金丸样品 大蜜丸:北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂;哈药集团世一堂制药厂;河北世济唐威药业有限公司;包头中药有限责任公司;亚宝药业大同制药有限公司。

水蜜丸:北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂;黑龙江葵花药业股份有限公司;吉林双士药业有限责任公司。

2 实验方法

2.1 色谱条件 Shim-pack VP-ODS 色谱柱(6.0 mm × 150 mm, 5 μm 岛津),流动相甲醇-乙腈-0.1%磷酸溶液(12:13:75),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 284 nm。

2.2 对照品溶液的制备 取橙皮苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取水蜜丸,研碎,精密称定约 0.7 g;取剪碎的大蜜丸,精密称定约 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 400 W,频率 40 kHz)15 min 使溶散,再加热回流 40 min,放冷,用 80% 甲醇补足损失的质量,摇匀,滤过,即得。

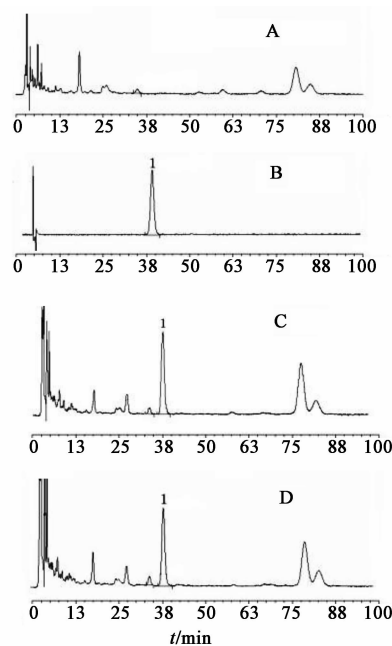
2.4 阴性对照溶液的制备 按处方量称取除陈皮外的其他药味,依照制法项下的方法制备样品,并按照供试品溶液的制备方法制得陈皮阴性对照溶液。

2.5 专属性实验 取橙皮苷对照品溶液、供试品溶液以及阴性对照溶液,分别进样测定,记录色谱图(图 1)。结果陈皮阴性样品的色谱图中在橙皮苷的位置没有吸收峰,表明本方法具有专属性。

2.6 线性关系考察 精密吸取质量浓度为 0.001 968, 0.003 936, 0.009 84, 0.019 68, 0.123, 0.246, 0.492 mg·L⁻¹ 的对照品溶液,依次注入液相色谱仪,进样量 10 μL,在前述色谱条件下测定峰面积,以进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $Y = 1\ 754\ 279.1 X + 4\ 145.9$ ($r = 0.999\ 9$),表明橙皮苷在 0.02 ~ 4.9 μg 线性关系良好。

2.7 精密度试验 取对照品溶液连续进样 6 次,测定峰面积,RSD 0.3%,表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验 取供试品溶液,室温放置,分别于 0, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 19, 24 h 各进样测定 1 次。结果表明,供试品溶液在 24 h 内稳定(RSD 0.5%)。



A. 陈皮阴性;B. 对照品;C. 大蜜丸;
D. 水蜜丸;1. 橙皮苷

图 1 女金丸中橙皮苷测定的 HPLC

2.9 重复性试验 取大蜜丸样品(河北世济唐威药业有限公司,批号 20070526)和水蜜丸样品(北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂,批号 803523525),按不同的取样量分组,每组取 3 份,按上述供试品溶液的方法测定,结果大蜜丸和水蜜丸峰面积的 RSD 分别为 2.3%, 0.7%,表明本实验方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

2.10.1 大蜜丸加样回收率试验 精密称取大蜜丸样品(与重复性试验同批次,约 0.5 g)3 组 9 份,每组分别精密加入 0.012 93, 0.020 68, 0.025 85 g·L⁻¹ 的橙皮苷对照品 80% 甲醇溶液 50 mL,按上述供试品溶液的方法测定,计算回收率,结果见表 1,表明方法的准确度较好。

2.10.2 水蜜丸加样回收率试验 精密称取水蜜丸样品(与重复性试验同批次,约 0.35 g)3 组 9 份,每组分别精密加入浓度为 0.010 46, 0.020 68, 0.025 85 g·L⁻¹ 的橙皮苷对照品的 80% 甲醇溶液 50 mL,按上述供试品溶液的方法测定,计算回收率,结果见表 2,表明方法的准确度较好。

2.11 样品测定 以本文建立的方法测定 15 批女金丸(8 批大蜜丸和 7 批水蜜丸)的含量,结果见表 3。

表 1 大蜜丸加样回收率试验

No.	取样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.503 5	1.019	0.646 25	1.690	103.9		
2	0.508 5	1.028	0.646 25	1.687	102.0		
3	0.502 7	1.017	0.646 25	1.685	103.3		
4	0.503 8	1.019	1.034	2.072	101.9		
5	0.501 9	1.015	1.034	2.066	101.7	102.0	1.3
6	0.508 5	1.029	1.034	2.087	102.3		
7	0.508 4	1.028	1.292 5	2.309	99.09		
8	0.504 5	1.021	1.292 5	2.343	102.3		
9	0.506 1	1.024	1.292 5	2.338	101.7		

表 2 水蜜丸加样回收率试验

No.	取样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.350 6	0.848 5	0.523	1.359	97.61		
2	0.349 3	0.845 3	0.523	1.356	97.66		
3	0.350 2	0.847 5	0.523	1.355	97.06		
4	0.352 7	0.853 5	1.034	1.831	94.52		
5	0.349 4	0.845 5	1.034	1.840	96.21	96.1	1.3
6	0.350 4	0.848 0	1.034	1.828	94.81		
7	0.350 5	0.848 2	1.292 5	2.078	95.15		
8	0.352 2	0.852 3	1.292 5	2.094	96.10		
9	0.351 5	0.850 6	1.292 5	2.088	95.72		

表 3 女金丸中橙皮苷含量测定

大蜜丸			水蜜丸		
生产厂家	批号	含量/(mg/丸)	生产厂家	批号	含量/mg·g ⁻¹
北京同仁堂股份有限公司	4013142	15.5	黑龙江葵花药业股份有限公司	20071103	2.2
	6013332	19.2		20071104	2.1
	7013422	17.4		20071105	2.0
哈药集团世一堂制药厂	0708141	16.3	吉林双士药业有限公司	081001	2.4
	0709104	16.5		081101	2.4
河北世济唐威药业有限公司	20070526	17.9			081102
亚宝药业大同制药有限公司	20070123	12.9	北京同仁堂股份有限公司	803523525	2.4
包头中药	071113	15.1			

3 讨论

以流动相为溶剂配制橙皮苷对照品溶液,扫描其紫外吸收光谱,表明橙皮苷的最大吸收波长为 284 nm,故将其确定为测定波长。

橙皮苷在热溶剂中溶解较好,故选择回流提取。蜜丸黏性较大,不易分散,因此采用超声加回流的提取方式,可以改善提取效果,保证回收率。分别采用甲醇和 80% 甲醇,超声 15 min 后回流 1 h 提取,测定结果相近。鉴于 80% 甲醇提取液杂质较少,最终选

用 80% 甲醇作为提取溶剂。关于提取时间,使用上述提取溶剂和提取方式,分别回流 20,40,60 min,测定含量,结果表明回流 40 min 基本提取完全,故确定为回流 40 min。

采用 3 根不同品牌、规格的色谱柱,按本文的方法测定同一批样品(哈药集团世一堂制药厂,批号 0708141),结果测定结果基本一致(表 4),表明理论塔板数 7000 以上的 C₁₈ 色谱柱均可用于女金丸中橙皮苷的含量测定,本方法对色谱柱的耐用性较好。

HPLC 同时测定都梁滴丸中的阿魏酸、5-甲氧基补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素

席海为¹, 马强², 李强¹, 雷海民^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123)

[摘要] 目的: 建立一种同时测定都梁滴丸中的阿魏酸、5-甲氧基补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素含量的方法。方法: 都梁滴丸以 75% 甲醇超声提取 30 min 后取上清液, 采用 Agilent Zorbax SB C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇 (A)-0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长分别为 254, 320, 330 nm。结果: 4 种成分的方法最低定量限为 3 ~ 15 mg·kg⁻¹, 线性范围 0.5 ~ 50 mg·L⁻¹, 相关系数 (r²) ≥ 0.999 5。高、中、低 3 个添加水平的平均加样回收率 (n = 5) 为 96.6% ~ 102.5%, RSD 0.16% ~ 2.07%。结论: 该方法简便、快速适用于都梁滴丸中阿魏酸、5-甲氧基补骨脂素、欧前胡素和异欧前胡素的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱法; 都梁滴丸; 阿魏酸; 5-甲氧基补骨脂素; 欧前胡素; 异欧前胡素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2011) 16-0081-05

Simultaneous Determination of Ferulic Acid, 5-Methoxypsoralen, Imperatorin and Isoimperatorin in Duliang Dropping Pills by High Performance Liquid Chromatography

XI Hai-wei¹, MA Qiang², LI Qiang¹, LEI Hai-min^{1*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a high performance liquid chromatographic (HPLC) method for simultaneous determination of ferulic acid, 5-methoxypsoralen, imperatorin, isoimperatorin in Duliang dropping

[收稿日期] 20110309(008)

[第一作者] 席海为, 硕士研究生, 从事中药分析研究

[通讯作者] * 雷海民, 副教授, 硕士生导师, Tel:010-84738640, E-mail:leihaimin@126.com

表 4 使用不同色谱柱测定

色谱柱	理论塔板数	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%
岛津 Shim-pack VP-ODS (6.0 mm × 150 mm, 5 μm)	7 500	1.81	
迪马 Diamonsil C ₁₈ (2) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	11 000	1.83	0.6
奥泰 Alltima HP-C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	15 000	1.82	

地分离。从图 1 可以看出, 2 倍橙皮苷保留时间处有明显的吸收峰, 若需连续进样分析时, 每次采集数据后可以提高流动相的乙腈比例将杂质成分快速洗出, 再进行下一次进样。

采用本方法测定橙皮苷的含量, 简便、准确、重复性好, 可以有效控制女金丸的质量。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005:340, 132, 478.

女金丸药味众多, 所含化学成分比较复杂, 供试品溶液中含较多的杂质成分, 选择甲醇与乙腈混合流动相, 能够使橙皮苷的峰形较好, 且与其他峰更好

[责任编辑 蔡仲德]