

## HPLC 测定胆疏胶囊中橙皮苷的含量

杨华<sup>1</sup>, 何希荣<sup>2</sup>, 顾雪竹<sup>2\*</sup>

(1. 南阳市医保中心, 河南 南阳 473000, 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 建立胆疏胶囊中橙皮苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Waters-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相采用甲醇-水 (25:75), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 284 nm, 柱温 35 °C。结果: 橙皮苷在 0.15 ~ 0.9 μg 线性关系良好,  $r=0.9999$ , 平均回收率 97.7%, RSD 2.68%。结论: 该法分离好, 快速、简便, 重复性好, 可作为该产品的质量控方法。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 胆疏胶囊; 橙皮苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0092-02

胆疏胶囊是由金钱草、青皮、红花、白芍等 8 味中药组成的复方制剂, 具有利胆排石、理气止痛之功效, 用于肝郁气滞所致的胁痛。临床用于慢性胆囊炎、胆囊结石等病证。为了有效地控制该制剂的质量, 本文建立了胆疏胶囊中橙皮苷的高效液相测定方法, 为控制该产品的质量提供了依据。

### 1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。KQ-100 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。对照品橙皮苷 (批号 07219909) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯 (Fisher 公司), 水为重蒸水。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Waters -C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 284 nm, 柱温 35 °C, 流动相甲醇-水 (25:75), 见图 1。

**2.3 对照品溶液的制备** 精密称取橙皮苷对照品 3 mg 于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释, 摇匀, 制成 0.12 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 即得。

**2.4 供试品溶液的制备** 取本品内容物约 0.5 g, 精密称定, 加甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 45 min, 放置至室温, 称定质量, 补足减失质量, 滤

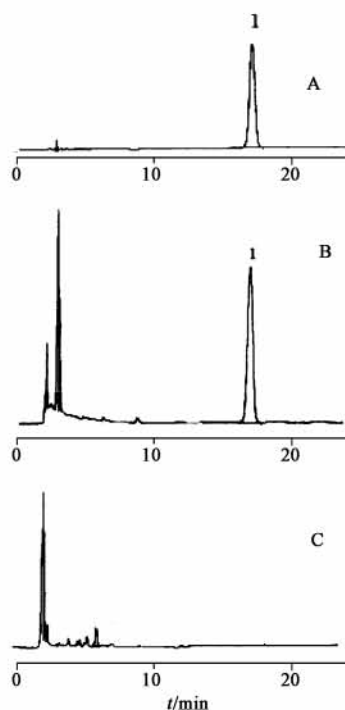


图 1 胆疏胶囊的高效液相色谱

A. 对照品; B. 供试品; C. 空白; 1. 橙皮苷

过, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 10 mL, 蒸干, 加水适量使溶解, 通过 D<sub>101</sub> 大孔吸附树脂柱 (内径约 1.5 cm, 10 mL), 先用水 100 mL, 弃去洗脱液, 继用 1% 吡啶甲醇溶液 50 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 定量转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

**2.5 空白对照溶液的制备** 取缺青皮药材的样品, 按 2.4 项下的方法制成缺青皮的对照溶液。按上述色谱条件测定, 结果空白溶液在与橙皮苷对照品相同保留时间处未见明显色谱峰。

**[收稿日期]** 2010-12-27

**[第一作者]** 杨华, 副主任医师, 从事中医、中药的研究工作, Tel: 13838980956, E-mail: yanghuany@163.com

**[通讯作者]** \* 顾雪竹, 实习研究员, 从事中药炮制研究, Tel: 010-64014411-2849, E-mail: 14182115@qq.com

**2.6 线性关系的考察** 精密称取橙皮苷对照品各 7.5 mg,置 5 mL 量瓶中,加甲醇制成  $1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液,精密吸取 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6 mL 置 5 mL 量瓶中加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取 5  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,连续进行 3 次,测定峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,结果表明橙皮苷在 0.15~0.9  $\mu\text{g}$  线性关系良好,回归方程为  $Y=9.134+1278.375X$  ( $r=0.9999$ )。

**2.7 精密度试验** 对同一供试品溶液按上述色谱条件连续进样 5 次,测定峰面积,计算橙皮苷峰面积 RSD 0.58%。结果表明精密度良好。

**2.8 稳定性考察** 精密吸取同一供试品溶液,分别于放置后 0,2,4,6,24 h 进样,记录橙皮苷峰面积,结果 RSD 0.98%,表明用本方法处理的溶液在 24 h 内稳定。

**2.9 重复性试验** 精密称取同一批样品 6 份,按 2.4 项下的制备方法,分别进行处理,按上述色谱条件测定含量,所测结果,橙皮苷的平均含量 2.38 mg/粒, RSD 2.34% ( $n=6$ )。

**2.10 回收率试验** 精密称取已知含量同一批样品 6 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别精密加入橙皮苷对照品甲醇溶液 ( $86 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 各 25 mL,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,分别测定计算回收率,结果表明平均回收率为 97.77%, RSD 2.68% ( $n=6$ )。见表 1。

**2.11 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,按照外标法计算 3 批样品橙皮苷含量为 2.30,2.39,2.42 mg/粒。

表 1 橙皮苷中的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品量 /mg	加入量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.2678	1.9308	2.15	4.0534	98.72		
2	0.2565	1.8494	2.15	3.9366	97.08		
3	0.2795	2.0152	2.15	4.0912	96.56	97.77	2.68
4	0.3042	2.1933	2.15	4.3987	102.5		
5	0.2622	1.8905	2.15	3.9654	96.51		
6	0.2756	1.9871	2.15	4.0328	95.15		

### 3 讨论

本文采用高效液相色谱测定本制剂中橙皮苷的含量,流动相参考文献<sup>[1-2]</sup>,由于本方为复方制剂,其成分复杂,样品经甲醇提取后直接进行高效液相层析,干扰成分较多,从液相色谱中可以看出,未经过  $D_{101}$  大孔树脂的供试品,含杂质较多,未能达到良好的基线分离,因此采用大孔树脂柱进行净化。净化时先用水洗脱,除去杂质,根据大孔树脂对橙皮苷的吸附的特性进行净化,实验中用 1% 吡啶甲醇溶液作为洗脱剂。结果用水 100 mL 可将大部分干扰杂质除去,再用 1% 吡啶甲醇 50 mL 可将橙皮苷洗脱完全。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:182.  
[2] 李先端,顾雪竹,林生,等. HPLC 测定青皮生品及炮制品中橙皮苷的含量[J].中成药,2004,26(9):724.

[责任编辑 蔡仲德]