

RP-HPLC 测定木香顺气丸中橙皮苷的含量

万慧杰^{*}, 王建国, 朱贺年

(包头中药有限责任公司, 内蒙古 包头 014040)

[摘要] 目的: 建立反相高效液相色谱法测定木香顺气丸中橙皮苷含量的方法。方法: 色谱柱为 Diamonsil(钻石) C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ); 流动相乙腈-水 (20 : 80); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 286 nm; 进样量 10 μL, 柱温 30 。结果: 线性关系为 $Y=6 \times 10^7 X+1 \times 10^6$, 相关系数 $r=0.999 5$, 橙皮苷线性范围为 0.20 ~6.40 μg, 平均回收率为 99.15%, RSD 1.32%。结论: 本法操作简便、易行, 重复性好、专属性强, 具有实用性。

[关键词] 木香顺气丸; 橙皮苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0067-03

HPLC Determination of Hesperidin in Muxiang Shunqi Pills

WAN Hui-jie^{*}, WANG Jian-guo, ZHU He-nian

(Baotou Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Baotou 014040, China)

[Abstract] Objective: To establish a RP-HPLC method for determination the content of hesperidin in Muxiang Shunqi Pills. **Method:** The analytical column was Diamonsil (diamonds) C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μ); mobile phase was a mixture of acetonitrile-water (20 : 80); flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; the detection wavelength was set at 286 nm; injection volume 10 μL, column temperature was 30 . **Result:** Withing the range of 0.02 ~6.40 μg, hesperidin showed a good linear relationship between the injection amount and peak areas ($Y=6 \times 10^7 X+1 \times 10^6$, $r=0.999 5$), average recovery rate was 99.15%, RSD was 1.32% respectively. **Conclusion:** The method is sensitive, repeatable, specific with the practicality.

[Key words] Muxiang Shunqi Pills; hesperidin; HPLC

木香顺气丸主要由木香、砂仁、香附(醋制)、槟榔、甘草、陈皮、厚朴(制)、枳壳(炒)、苍术(炒)、青皮(炒)等 10 味中药组成的丸剂, 系卫生部药品标准中药成方制剂第一册^[1] 标准收载的品种。具有行气化湿, 健脾和胃。用于湿浊阻滞气机, 胸膈疲闷, 腕腹胀痛呕吐恶心, 气纳呆。现标准中尚无该药相关有效成分的鉴别和含量测定方法。为了便于控制药物的质量, 本文选择处方中的陈皮、青皮、枳壳所含橙皮苷为定量指标^[2-3], 参照文献^[4-5], 研究建立了 RP-HPLC 测定木香顺气丸中橙皮苷含量的方法, 结果操作简便, 准确可靠。

1 材料

1.1 仪器 日立 L-2000 全自动高效液相色谱仪, L-2400 紫外检测器, EZStart Software with Hitachi LaChrom Elite LC Control 原产工作站; KQ-300DB 型数控超声波清洗器(300 W, 40 kHz)。

1.2 试药 橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 110721-200512, 供含量测定用); 木香顺气丸: 包头中药有限责任公司提供, 共 3 批(批号 081024, 060717, 070305)。甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 (20 : 80); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 286 nm; 柱温 30 ; 进样量 10 μL, 流动相经 0.45 μm 滤器滤过。理论板数按橙皮

[收稿日期] 20100713

[通讯作者] * 万慧杰, 工程师, 硕士, 研究方向缓控释制剂,

Tel: 0472-4616330, E-mail: whj_wjg@sohu.com

峰计算应不低于 4 000, 橙皮苷峰与相邻杂质峰的分度应符合规定。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取置 P_2O_5 干燥器中真空干燥 24 h 橙皮苷对照品适量, 加甲醇制成 $0.1636 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取木香顺气丸, 粉碎成细粉, 精密称取 1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 50 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 过滤, 取续滤液用

微孔滤膜 ($0.45 \mu\text{m}$) 滤过, 即得。

2.4 阴性对照品溶液的制备 按本品的处方、制法制备缺少陈皮, 青皮, 枳壳的样品, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.5 干扰试验 取橙皮苷对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液分别注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 见图 1。可见阴性对照样品对橙皮苷的测定无干扰。

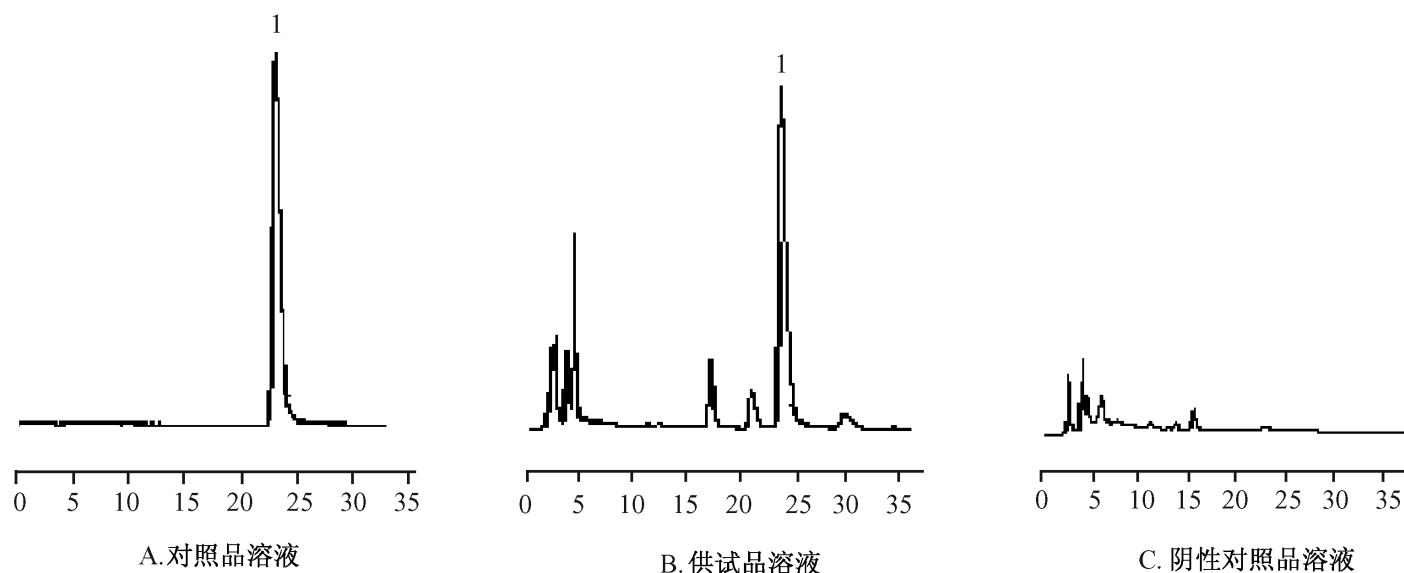


图 1 木香顺气丸 HPLC 图
1. 橙皮苷 (hesperidin)

2.6 线性关系考察 取橙皮苷对照品, 加甲醇制成 $0.02, 0.08, 0.12, 0.16, 0.24, 0.32, 0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 精密吸取 $10 \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪器, 在上述色谱条件下测定, 记录色谱图, 以进样量为横坐标, 橙皮苷峰面积值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 6 \times 10^7 X + 1 \times 10^6$, $r = 0.9995$ 。结果表明橙皮苷在 $0.20 \sim 6.40 \mu\text{g}$ 峰面积积分值与浓度之间呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验 分别吸取上述对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 按上述色谱条件, 分别进样 5 次, 测定峰面积, 其 RSD 0.89%, 结果表明系统和方法精密度良好。

2.8 稳定性试验 分别吸取同一供试品溶液 $10 \mu\text{L}$, 按上述色谱条件, 分别在 0, 3, 6, 9, 12 h 进样测定, 测定峰面积。结果 RSD 1.10%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.9 重复性试验 取同一批号样品 (批号 081024), 照 2.3 项下方法制备供试品溶液 5 份, 按上述色谱条件。测得橙皮苷平均含量为 $14.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其 RSD 1.29% ($n = 5$), 表明本方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 取批号为 081024 (含量

$14.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 的木香顺气丸约 0.50 g, 共 9 份。分别精密橙皮苷对照溶液适量, 按供试品溶液制备法制备, 按上述含量测定项下的方法测定含量。计算回收率, 结果平均回收率为 99.15%, RSD 1.59%, 结果见表 1。

表 1 橙皮苷回收率试验

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	加入量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.5002	7.4630	10.6031	3.19	99.33		
2	0.5004	7.4660	10.7528	3.19	101.3		
3	0.4996	7.4540	10.6155	3.19	99.62		
4	0.4998	7.4572	15.3121	7.98	98.32		
5	0.5005	7.4675	15.4395	7.98	99.89	98.89	1.32
6	0.5007	7.4704	15.2588	7.98	97.43		
7	0.5005	7.4675	18.4247	11.17	97.15		
8	0.5002	7.4630	18.5420	11.17	98.78		
9	0.5007	7.4704	18.5029	11.17	98.16		

2.11 样品含量测定 取 060717, 070305, 081024 3 批样品, 按供试品溶液制备项下方法操作, 按上述色谱条件分析测定, 结果 3 批样品中橙皮苷含量分别为 25.19, 16.23, $14.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

(下转第 73 页)

牛黄上清微丸定性及定量分析

杨立新, 王锦玉*, 仝燕, 刘岱, 李建荣, 王智民
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立牛黄上清微丸定性及定量分析方法。方法: 采用薄层色谱法对制剂中的人工牛黄、栀子、赤芍、连翘、黄连、黄柏、黄芩、大黄和冰片进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中的黄芩苷、大黄素和大黄酚的含量。结果: 薄层色谱显色清晰, 重复性好, 阴性对照无干扰; 黄芩苷线性范围为 0.091 6 ~ 0.916 0 μg , $r=0.999 7$, 回收率和 RSD 分别为 98.48% 和 2.05%; 大黄素线性范围为 0.034 ~ 0.272 μg , $r=0.999 9$, 回收率和 RSD 分别为 97.45% 和 2.16%; 大黄酚线性范围为 0.055 ~ 0.44 μg , $r=0.999 9$, 回收率和 RSD 分别为 98.55% 和 2.26%。结论: 该方法操作简便, 结果准确, 重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 牛黄上清微丸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0069-05

牛黄上清微丸由人工牛黄, 栀子, 黄连, 黄柏, 黄芩, 大黄, 连翘, 赤芍, 冰片等 19 味药材组成。具有清热泻火、散风止痛之功效, 临床用于热毒内盛、风火上攻所致的头痛眩晕, 目赤耳鸣, 咽喉肿痛, 口舌生疮, 牙龈肿痛, 大便燥结^[1]。方中黄芩、大黄具有清热燥湿, 泻火解毒, 泻热通肠, 凉血解毒的功效, 故选择黄芩中黄芩苷, 大黄中大黄素、大黄酚的功效成分作为牛黄上清微丸定量分析的质控指标, 采用高效液相色谱法进行含量测定。对制剂中的人工牛黄、栀子、赤芍、连翘、黄连、黄柏、黄芩、大黄和冰片进行定性鉴别。

1 仪器与试药

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 二极管矩阵检测器及 HPCHEM 色谱工作站; Xtimate-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为高纯水; 对照品: 黄芩苷 (0715-9506)、大黄素 (756-8902)、大黄酚 (0796-9404)、胆酸 (078-9211)、猪去氧胆酸 (9304)、栀子苷 (0749-200007)、盐酸小檗碱对照品 (0713-9906)、连翘苷对照品 (821-9401)、芍药苷对照品

(0736-9811)、龙脑对照品 (881-200001)、人工牛黄对照药材 (1197-200101)、黄连对照药材 (0913-0301)、黄柏对照药材 (0937-20004)、黄芩对照药材 (0955-9904)、大黄对照药材 (902-9002)、连翘对照药材 (0908-0301) 均由中国药品生物制品检定所提供; 牛黄上清微丸。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 人工牛黄 取牛黄上清微丸 4.5 g, 研细, 加三氯甲烷 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液, 另取人工牛黄对照药材 0.1 g, 同法制成对照药材溶液。再取胆酸、猪去氧胆酸对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以异辛烷-醋酸乙酯-冰醋酸 (15 : 7 : 5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材、对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

2.1.2 赤芍 取牛黄上清微丸 9 g, 研细, 加乙醇 50 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用乙醚提取 3 次, 每次 20 mL, 弃去乙醚液, 再用水饱和正丁醇提取 3 次, 每次 15 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 拌入少许中性氧化铝, 水浴上拌匀干燥, 加于中性氧化铝柱 (100 ~ 200 目, 1 g, 内径约 10 mm) 顶部, 用甲醇 50 mL 洗脱, 收集洗脱液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为

[收稿日期] 20100705(004)

[基金项目] “重大新药创制” (2009ZX09301-005), (2009ZX09308-003)

[第一作者] 杨立新, 主管技师, 研究方向: 中药制剂分析, Tel: 13371753316

[通讯作者] * 王锦玉, 助理研究员 研究方向: 中药新剂型, Tel: 13683284092, E-mail: dgzwjy@126.com