

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 μm);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 μm); 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 ,噎气纳呆。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

苷峰计算应不低于 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。

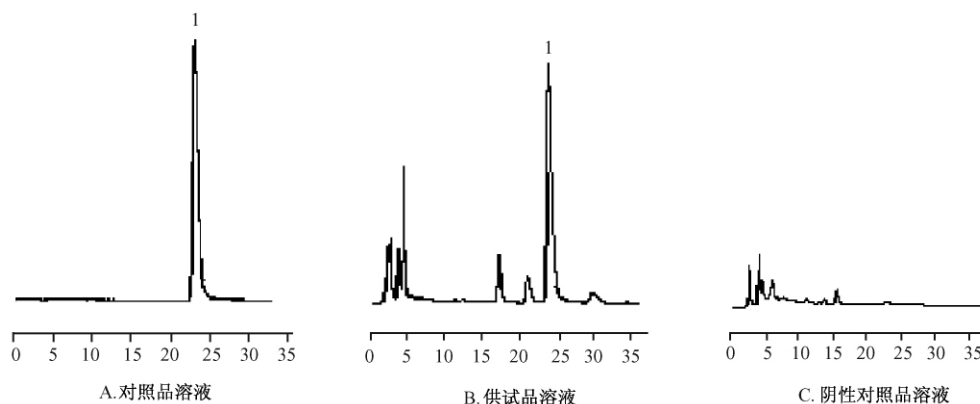


图 1 木香顺气丸 HPLC 图

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, 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	0.500	2.7463	0.10603	1.319	99.33		
2	0.500	4.7466	0.10752	8.319	101.3		
3	0.499	6.7454	0.10615	5.319	99.62		
4	0.499	8.7457	2.15312	1.798	98.32		
5	0.500	5.7467	15.439	5.798	99.89	98.89	1.32
6	0.500	7.7470	4.15258	8.798	97.43		
7	0.500	5.7467	18.424	7.1117	97.15		
8	0.500	2.7463	0.18542	11.17	98.78		
9	0.500	7.7470	4.18502	9.1117	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)

3 讨论

牛黄上清微丸所含药味较多,除本实验已经鉴别的药味外,还进行了其他药味如薄荷、川芎、当归、甘草、菊花、桔梗、荆芥穗、白芷的鉴别研究,但都因空白试验有干扰而未列入质量标准。

牛黄上清微丸中人工牛黄为君药,本应选择人工牛黄中胆酸、胆红素作为人工牛黄上清微丸含量测定的质控指标,人工牛黄的部颁标准中胆酸、胆红素的含量测定均采用分光光度法,但因本方为复方制剂,用分光光度法测定其含量,空白有干扰,故又采用 HPLC 测定胆酸、胆红素,分别考察了 605 nm, 453 nm, 210 nm 不同的吸收波长,及甲醇-水(85:

15)、甲醇-乙腈-1% 醋酸溶液(88:10:2)及甲醇-水(65:35)不同的流动相,均因有干扰,未达到满意的分离效果,最终只对人工牛黄中的有效成分进行了薄层鉴别。

含量测定试验中对不同提取方法(超声处理 30 min、加热回流 1 h、冷浸 24 h)及提取时间进行了比较研究,结果显示黄芩苷、大黄素及大黄酚超声提取 30min 即可提取完全并具有快速简便等优点。

[参考文献]

[1] 中国药典[S].一部.2010:378.

[责任编辑 仝燕]

(上接第 68 页)

3 讨论

比较加热回流提取^[6]和超声处理提取^[7],在使用等量相同溶剂的基础上,分别将等量的样品用回流法和超声法提取相同时间后,测定橙皮苷含量,结果表明超声法提取法效果好,回收率高,且超声 50 min 已经能将样品中的橙皮苷提取完全,故将提取方法定为超声提取 50 min。

超声提取后的供试品溶液储藏在冰箱中冷藏 24 h 后,有结晶析出,此结晶溶于石油醚,样品经石油醚索式提取 2 h 后,弃去石油醚(除去挥发油),药渣挥干加甲醇再超声提取 50min,滤过,取续滤液进行测定,结晶对测定结果无影响。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中药成方制剂

[S]. 卫生部药品标准,1989,1:33.

[2] 中国药典[S].一部.2005:132.

[3] 黄加龙,杨武亮,周道根.枳壳研究概况[J].食品与药品,2006,8(11A):1.

[4] 邓茂芳,潘燕. HPLC 测定四制香附丸中橙皮苷的含量[J].安徽医药,2005,9(3):206.

[5] 张小琼,何燕. HPLC 测定珍珠胃安丸中橙皮苷的含量[J].中成药,2006,28(3):447.

[6] 刘志红,马德平,朱瑞龙. HPLC 测定乳痛消 II 号中橙皮苷的含量[J].中成药,2003,25(3):244.

[7] 黄慧成. 高效液相色谱法测定复方止咳化痰颗粒中橙皮苷的含量[J].江西中医学院学报,2001,13(4):179.

[责任编辑 顾雪竹]