

通宣理肺胶囊中柚皮苷、橙皮苷和黄芩苷的含量测定

唐德智*

(广西南宁食品药品检验所, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 同时测定通宣理肺胶囊中柚皮苷、橙皮苷、黄芩苷的含量。方法: 色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (21:79) 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。结果: 柚皮苷进样量在 0.156~1.408 μg 线性关系良好 ($r=0.9998$, $n=5$), 平均回收率 99.56%, RSD 0.88% ($n=9$); 橙皮苷进样量在 0.145~1.301 μg 线性关系良好 ($r=0.9997$, $n=5$), 平均回收率 99.83%, RSD 0.66% ($n=9$)。黄芩苷进样量在 0.359~3.233 μg 线性关系良好 ($r=0.9999$, $n=5$), 平均回收率为 98.94%, RSD 1.55% ($n=9$); 结论: 该方法操作简便, 准确可靠, 可作为通宣理肺胶囊的质量控制。

[关键词] 通宣理肺胶囊; 高效液相色谱法; 柚皮苷; 橙皮苷; 黄芩苷; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)15-0093-03

Determination of Naringin, Hesperidin and Baicalin in Tongxuan Lifei Capsules

TANG De-zhi*

(Nanning institute for Food and Drug Control of Guangxi, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of naringin, hesperidin and baicalin in Tongxuan Lifei capsules. **Method:** The chromatographic column of Agilent ZORBAX SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (21:79). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the detective wavelength was 280 nm and column temperature was 30 °C. **Result:** The linear range of naringin, hesperidin and Baicalin were 0.156-1.408 μg ($r=0.9998$), 0.145-1.301 μg ($r=0.9997$) and 0.359-3.233 μg ($r=0.9999$), the average recoveries ($n=9$) were 99.56% (RSD 0.88%), were 99.83% (RSD 0.66%) and 98.94% (RSD 1.55%) respectively. **Conclusion:** The results showed this method is accurate, reproducible, simple and easy to do, which can be used in quality control of Tongxuan Lifei Capsules.

[Key words] Tongxuan Lifei capsules; HPLC; naringin; hesperidin; baicalin; content determination

通宣理肺胶囊是由紫苏叶、前胡、甘草、陈皮、半夏(制)、麻黄、枳壳(炒)、黄芩等 11 味中药材经加工提取后制成的中药复方制剂, 具有解表散寒, 宣肺止咳的功效。临床上用于治疗风寒束表、肺气不宣所致的感冒咳嗽, 症见发热、恶寒、咳嗽、鼻塞流涕、头痛、元汗、肢体酸痛。《中国药典》2010 年版一部

仅测定其中盐酸麻黄碱的含量^[1]。本实验参考有关文献^[2-4], 建立一种同时测定柚皮苷、橙皮苷及黄芩苷含量的高效液相色谱法, 为该制剂的质量控制提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 四元梯度泵, G2170AA 数据处理软件系统; 电子分析天平(Sartorius)。

1.2 试剂 柚皮苷(批号 110722-200610)、橙皮苷(批号 110721-200613)和黄芩苷对照品(批号 110715-200514)均购自中国药品生物制品检定所,

[收稿日期] 20110322(016)

[通讯作者] *唐德智, 主管中药师, 从事中药制剂的分析,
Tel: 13877186930, 0771-3132340, E-mail:
tangdz7497@163.com

供含量测定用。乙腈、甲醇均为色谱纯,水为超纯水,其余化学试剂均为分析纯。通宣理肺胶囊(四川华泰康药业有限公司生产,批号 100125,100302,100927,101208,101223;规格 0.36 g/粒,市售药品)。

2 色谱条件

色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸 (21:79), 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

3 方法与结果

3.1 溶液的制备

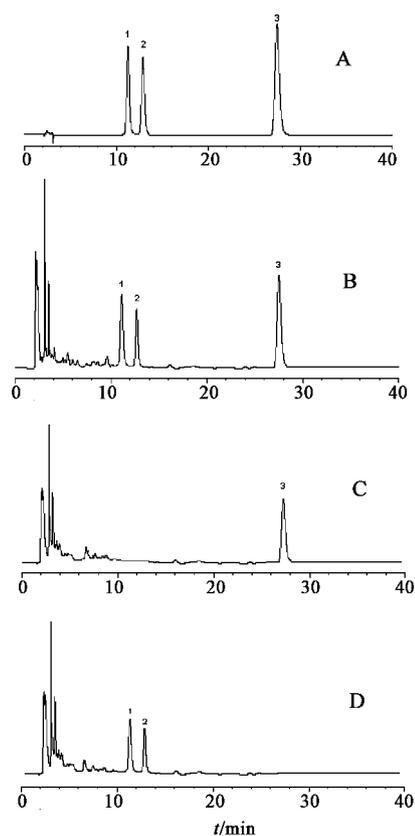
3.1.1 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷对照品 7.82 mg、橙皮苷对照品 7.23 mg 及黄芩苷对照品 17.96 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即制成含柚皮苷 0.156 4 g · L⁻¹、橙皮苷 0.144 6 g · L⁻¹、黄芩苷 0.359 2 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

3.1.2 供试品溶液的制备 取供试品内容物, 混匀, 研细, 取约 0.2 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 即得。

3.1.3 阴性样品溶液的制备 按质量标准中的处方比例, 分别制备不含陈皮、枳壳和不含黄芩的样品, 再按供试品溶液的制备方法, 分别制备不含陈皮、枳壳和不含黄芩的阴性样品溶液。

3.2 系统适用性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图, 结果见图 1。由图 1 可见, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 阴性样品对测定无干扰。

3.3 线性关系考察 精密量取混合对照品溶液 1.0 3.0 5.0 7.0 9.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。分取上述不同浓度的对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以对照品进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。柚皮苷的回归方程为 $Y = 159.95X + 142.57$ ($r = 0.9998$), 线性范围 0.156 ~ 1.408 μg; 橙皮苷的回归方程为 $Y = 139.68X + 136.97$ ($r = 0.9997$), 线性范围 0.145 ~ 1.301 μg; 黄芩苷的回归方程为 $Y = 153.26X + 143.69$ ($r = 0.9999$), 线性范围



A. 对照品; B. 供试品; C. 缺陈皮、枳壳的阴性对照;
D. 缺黄芩的阴性对照; 1. 柚皮苷; 2. 橙皮苷; 3. 黄芩苷

图 1 通宣理肺胶囊 HPLC

0.359 ~ 3.233 μg。

3.4 精密度试验 精密量取混合对照品溶液 5.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 进样 6 次, 按上述色谱条件测定 3 成分峰面积, 柚皮苷 RSD 1.06%, 橙皮苷 RSD 1.09%, 黄芩苷 RSD 0.85%, 表明精密度良好。

3.5 稳定性试验 取供试品溶液 (批号 100927), 分别在 0.2, 4, 6, 8, 12, 16 h 进样, 测定, 按上述色谱条件测定 3 种成分的峰面积, RSD 为柚皮苷 1.86%, 橙皮苷 1.76%, 黄芩苷 1.95%, 表明供试品溶液中 3 成分在 16 h 内稳定。

3.6 重复性试验 取同一批号供试品 (批号 100927) 按供试品溶液的制备方法分别制备 6 份供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 分别计算柚皮苷、橙皮苷、黄芩苷的含量, 结果柚皮苷含量为 7.05 mg/粒, RSD 1.13% ($n = 6$); 橙皮苷含量为 6.49 mg/粒, RSD 1.28% ($n = 6$); 黄芩苷含量为 16.08 mg/粒, RSD 1.35% ($n = 6$)。结果表明, 本方法重复性良好。

3.7 回收率试验 取已知含量的供试品(批号 100927) 0.1 g, 共 9 份, 分别精密加入一定量的柚皮苷、橙皮苷和黄芩苷对照品, 按样品测定项下的方法测定, 分别计算回收率, 结果见表 1~3。

表 1 柚皮苷的加样回收率试验(n =9)

取样量	样品含量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
/g	/mg	/mg	/mg	%	%	%
0.1025	2.01	1.57	3.59	100.64		
0.1005	1.97	1.57	3.56	101.27		
0.1037	2.03	1.57	3.59	99.36		
0.1018	1.99	1.96	3.94	99.49		
0.1016	1.99	1.96	3.96	100.51	99.56	0.88
0.1021	2.00	1.96	3.94	98.98		
0.1009	1.98	2.35	4.29	98.30		
0.1011	1.98	2.35	4.32	99.57		
0.1015	1.99	2.35	4.31	98.72		

表 2 橙皮苷的加样回收率试验(n =9)

取样量	样品含量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
/g	/mg	/mg	/mg	%	%	%
0.1025	1.85	1.45	3.29	99.31		
0.1005	1.81	1.45	3.27	100.69		
0.1037	1.87	1.45	3.30	98.62		
0.1018	1.84	1.81	3.63	98.90		
0.1016	1.83	1.81	3.66	101.10	99.83	0.66
0.1021	1.84	1.81	3.62	98.34		
0.1009	1.82	2.17	4.02	101.38		
0.1011	1.82	2.17	3.97	99.08		
0.1015	1.83	2.17	4.01	100.46		

表 3 黄芩苷的加样回收率试验(n =9)

取样量	样品含量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
/g	mg	/mg	/mg	%	%	%
0.1025	4.58	3.57	8.11	98.88		
0.1005	4.49	3.57	7.97	97.48		
0.1037	4.63	3.57	8.18	99.44		
0.1018	4.55	4.47	8.92	97.76		
0.1016	4.54	4.47	9.03	100.45	98.94	1.55
0.1021	4.56	4.47	9.09	101.34		
0.1009	4.51	5.36	9.86	99.81		
0.1011	4.52	5.36	9.89	100.19		
0.1015	4.53	5.36	9.73	97.01		

3.8 样品含量测定 将从市场上购得的 5 批样品制成样品溶液, 按上述色谱条件测定, 结果见表 4。

4 讨论

考察了稀乙醇、70% 乙醇及甲醇 3 种试剂提取效果, 结果发现用甲醇提取较好; 同时考察了不同提

表 4 通宣理肺胶囊中 3 成分含量测定(n =3) mg/粒

批号	柚皮苷	橙皮苷	黄芩苷
100125	6.89	6.37	11.29
100302	7.02	6.54	14.35
100927	7.05	6.49	16.08
101208	7.83	6.86	15.37
101223	8.03	7.26	16.61

取方法, 超声波提取法提取率相对较低, 索氏提取与直接回流法提取率高, 但索氏提取法提取时间长, 直接回流提取时间较短, 操作简便。考察了甲醇加热回流提取 60, 90 min 的提取效果, 分析比较后发现 60 min 提取比较完全。

黄芩苷与柚皮苷、橙皮苷同为黄酮体类的苷类化合物, 理化性质相近, 可能有相似的色谱行为。《中国药典》2010 年版一部中黄芩苷的检测波长为 280 nm^[1], 柚皮苷、橙皮苷在 280 nm 波长处也有较强吸收。

考察了甲醇-水(38:62)、甲醇-0.4% 磷酸溶液(40:60)、甲醇-0.1% 冰醋酸溶液(32:68)、乙腈-0.5% 磷酸(18:82) 等流动相, 但均分离不佳。采用乙腈-水(21:79) 且加入适量磷酸, 调整流动相酸度, 可以使柚皮苷、橙皮苷与黄芩苷与相邻峰均能较好分离, 且其他成分无干扰, 最终确定乙腈-0.1% 磷酸(21:79) 为流动相。实验比较了 3 种色谱柱, 结果在色谱条件完全一致的情况下, 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 为色谱柱时, 样品中柚皮苷、橙皮苷与黄芩苷均得到很好分离, 色谱峰形较好, 保留时间适宜。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 282, 1056.
- [2] 孙冬梅. 二陈汤复方颗粒质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(10): 9.
- [3] 娄梅, 郑鹏, 李霞, 等. 高效液相色谱法测定秋梨琵琶蜜中柚皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(12): 9.
- [4] 陈丽姑, 杨丽, 王冬梅, 等. HPLC 同时测定舒胆胶囊中 4 种黄酮类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(8): 1234.

[责任编辑 蔡仲德]