

高效液相色谱法同时测定 益气和胃胶囊中 4 种成分的含量

程庆兵¹, 徐小梅²

(1. 合肥市食品药品检验中心, 合肥 238000; 2. 安徽中医药大学第一附属医院药学部, 合肥 230031)

摘要 目的 建立益气和胃胶囊中 4 种成分的含量测定方法。方法 采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法, ThermoC₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 0.5 μm), 流动相为乙腈-水(用磷酸溶液调节 pH 值至 3)(20: 80); 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 283 nm。结果 黄芩苷在(0.573 5 ~ 5.736 0) × 10⁻² mg·mL⁻¹、柚皮苷在(0.194 0 ~ 1.939 5) × 10⁻² mg·mL⁻¹、橙皮苷在(0.205 1 ~ 2.051 0) × 10⁻³ mg·mL⁻¹、新橙皮苷在(0.202 0 ~ 2.020 0) × 10⁻² mg·mL⁻¹ 范围内各自峰面积积分值均呈良好的线性关系; RSD 分别为 0.28%, 0.54%, 0.54%, 0.31% (n = 5)。黄芩苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的平均回收率分别为 103.94%, 98.06%, 103.09%, 95.67%。结论 该方法简便、灵敏、准确, 可用于益气和胃胶囊的制剂质量控制。

关键词 益气和胃胶囊; 黄芩苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 色谱法, 高效液相

中图分类号 R286; R927.2

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2017)01-0070-03

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.01.017

Simultaneous Determinations of Four Ingredients in Yiqi Hewei Capsules by HPLC

CHENG Qingbing¹, XU Xiaomei² (1. The Food and Drug Inspection Center of Hefei City, Hefei 238000, China; 2. Department of Pharmacy, the First Hospital, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

ABSTRACT Objective To establish a method for the quantitative determinations of the ingredients in yiqi hewei capsules. **Methods** RP-HPLC method was used. The separation was performed on a Thermo C₁₈ column with mobile phase consisting of acetonitrile-water (20: 80) (pH was adjusted to 3 with glacial acetic acid) at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 283 nm. **Results** The linear ranges were (0.573 5 ~ 5.736 0) × 10⁻² mg·mL⁻¹ for baicalin, (0.194 0 ~ 1.939 5) × 10⁻² mg·mL⁻¹ for hesperidin, (0.205 1 ~ 2.051 0) × 10⁻³ mg·mL⁻¹ for naringin and (0.202 0 ~ 2.020 0) × 10⁻² mg·mL⁻¹ for neohesperidin; RSD = 0.28%, 0.54%, 0.54%, 0.31% (n = 5), respectively. The average recoveries were 103.94%, 98.06%, 103.09%, 95.67%, respectively. **Conclusion** The established method is simple, sensitive and accurate, which can be used for the quality control of yiqi hewei capsules.

KEY WORDS Yiqi hewei capsules; Baicalin; Hesperidin; Naringin; Neohesperidin; Chromatography, high performance liquid

益气和胃胶囊由黄芪、丹参、党参、黄芩、枳壳、白芍、白术等中药组成, 具有健脾和胃、通络止痛作用, 主要用于慢性非萎缩性胃炎脾胃虚弱兼微热瘀阻证, 证见胃脘痞满胀痛、食少纳呆、大便溏薄、体倦乏力、舌淡苔薄黄、脉细。本品质量标准收载于国家食品药品监督管理局标准 YBZ11432009。在此述标准中, 只有黄芪的含量测定方法, 缺少对黄芩和枳壳以及丹参、白芍、白术的含量测定方法, 不利于制剂的质量控制。笔者建立高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中黄芩和枳壳的含量, 报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 AgiLent 1100 高效液相色谱仪(美国 AgiLent 公司), UV 检测器; xp-205 电子分析天平(梅特勒-托利多), 岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪(日本岛津公司), DAD 检测器。

1.2 试剂 黄芩苷对照品(批号: 110715-201318; 含量: 93.3%)、柚皮苷对照品(批号: 110722-201312; 含量: 94.7%)、橙皮苷对照品(批号: 110721-201316; 含量: 100.0%)、新橙皮苷对照品(批号: 111857-201102, 含量: 99.6%)均购自中国食品药品检定研究院; 益气和胃胶囊(批号: 140301, 140501, 140701, 合肥立方制药有限公司); 乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 最佳检测波长的选择 黄芩苷在 279 nm 处有最

收稿日期 2015-06-17 修回日期 2015-11-30

作者简介 程庆兵(1982-), 男, 安徽合肥人, 主管中药师, 学士, 主要研究方向: 中药及其制剂标准。电话: 0551-82367432, E-mail: chengqingbing@163.com。

大吸收,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷在 283 nm 处有最大吸收,通过对 4 种化学成分在 279 和 283 nm 的吸光度比较,橙皮苷灵敏度低,且在 279 nm 波长处吸光度明显小于在 283 nm 波长处,故选择 283 nm 作为最大吸收波长^[1-2]。

2.2 色谱条件 ThermoC₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 0.5 μm);流动相为乙腈-水(用磷酸调节 pH 值至 3.0)(20:80);检测波长为 283 nm;柱温为 30 ℃;流速为 1.0 mL·min⁻¹;进样量为 10 μL;理论板数按新橙皮苷峰计算应不低于 4 000。

2.3 专属性考察 取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL,按照“2.2”项色谱条件分别进行测定,表明其他成分对测定无干扰。

2.4 溶液的制备

2.4.1 混合对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 15.37 mg,加甲醇制成黄芩苷对照品储备液(0.956 0 mg·mL⁻¹);柚皮苷对照品 15.36 mg,加甲醇制成柚皮苷对照品储备液(0.969 7 mg·mL⁻¹);橙皮苷对照品 15.38 mg,加甲醇制成橙皮苷对照品储备液(1.025 3 mg·mL⁻¹)。新橙皮苷对照品 15.21 mg,加甲醇溶液稀释制成新橙皮苷对照品储备液(1.009 9 mg·mL⁻¹)。分别精密量取上述各种储备液 3.0,1.0,0.1,1.0 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品使用液。

2.4.2 供试品溶液的制备 取本品内容物,研细,精密称取 1.0 g 置 50 mL 量瓶中,加甲醇 35 mL 超声处理(250 W,40 kHz)30 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。精密量取 20 mL 续滤液置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过^[3]。取续滤液作为供试品溶液。

2.5 线性关系考察 取混合对照品溶液,分别精密量取 1,2,5,8,10 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,分别吸取 10 μL 注入液相色谱仪,进行检测,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。并求得线性回归方程,结果:黄芩苷 $A = 5\,644.160\,23\,C + 23.337\,04$, $r = 0.999\,98$;柚皮苷 $A = 2\,621.018\,85\,C + 15.055\,52$, $r = 0.999\,99$;橙皮苷 $A = 309.133\,36\,C + 1.154\,69$, $r = 0.998\,82$;新橙皮苷 $A = 3\,023.253\,52\,C + 7.612\,85$, $r = 0.999\,96$,黄芩苷浓度在 $(0.573\,5 \sim 5.736\,0) \times 10^{-2}$ mg·mL⁻¹、柚皮苷浓度在 $(0.194\,0 \sim 1.939\,3) \times 10^{-2}$ mg·mL⁻¹、橙皮苷浓度在 $(0.205\,1 \sim 2.051\,0) \times 10^{-3}$ mg·mL⁻¹、新橙皮苷浓度在 $(0.202\,0 \sim 2.020\,0) \times 10^{-2}$ mg·mL⁻¹ 范围内各自峰面

积积分值均呈良好的线性关系;RSD 分别为 0.28%,0.54%,0.54%,0.31% ($n = 5$)。

2.6 精密度实验 取本品内容物,研细,精密称取 1.0 g 置于 50 mL 量瓶中,加甲醇 35 mL 超声处理(250 W,40 kHz)30 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。精密量取 20 mL 续滤液置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。按“2.2”项色谱条件连续进样 6 次,测定各成分峰面积 A。黄芩苷峰面积 RSD 为 0.31%;柚皮苷峰面积 RSD 为 0.98%;橙皮苷峰面积 RSD 为 1.02%;新橙皮苷峰面 RSD 为 1.05%。结果表明精密度良好。

2.7 重复性实验 另取本品内容物,研细,精密称取 1.0 g 置于 50 mL 量瓶中,加甲醇 35 mL 超声处理(250 W,40 kHz)30 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,平行配制供试品溶液 6 份。精密量取 20 mL 续滤液置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。按“2.2”项色谱条件,测定各成分峰面积(A)。黄芩苷峰面积 RSD 为 0.20%;柚皮苷峰面积 RSD 为 0.78%;橙皮苷峰面积 RSD 为 1.00%;新橙皮苷峰面 RSD 为 1.17%。结果表明重复性良好。

2.8 稳定性实验 取同一供试品溶液,于室温下放置 0,1,2,4,8,10,15,24 h 后进样测定,按“2.2”项色谱条件测定各成分峰面积,结果:黄芩苷的平均峰面积为 1 803.523, RSD = 0.30% ($n = 6$);柚皮苷的平均峰面积为 285.626, RSD = 0.51% ($n = 6$);橙皮苷的平均峰面积为 30.602, RSD = 0.88% ($n = 6$);新橙皮苷的平均峰面积为 297.125, RSD = 1.05% ($n = 6$),结果表明供试品溶液在 24 h 内较稳定。

2.9 加样回收率实验 取已知含量的供试品(批号 140301),研细,称取 9 份,分别精密加入黄芩苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品适量,按“2.4.2”项方法操作,分别测定含量。计算加样回收率,结果黄芩苷的回收率为 103.94%, RSD = 1.05% ($n = 9$);柚皮苷的回收率为 98.06%, RSD = 0.43% ($n = 9$);橙皮苷的回收率为 103.09%, RSD = 0.76% ($n = 9$);新橙皮苷的回收率为 95.67%, RSD = 0.52% ($n = 9$)。结果见表 1。

2.10 样品含量测定 取本品内容物,研细,精密称取 1.0 g 各 3 份,分别置 50 mL 量瓶中,加甲醇 35 mL 超声处理(250 W,40 kHz)30 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。精密量取 20 mL 续滤液置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。取续滤液作为供试品溶液。按“2.1”项色谱条件测定峰面积,计算样品中各成分的含量,结果见表 2。

表 1 4 种成分加样回收率实验结果

Tab. 1 Results of recovery experiment on four constituents				
成分	原有量	加入量	测得量	回收率/%
黄芩苷	3.878 9	3.059 2	7.072 7	104.40
	3.878 9	3.059 2	7.070 1	104.31
	3.878 9	3.059 2	7.074 2	104.45
	3.876 6	3.824 0	7.890 2	104.96
	3.876 6	3.824 0	7.873 2	104.51
	3.876 6	3.824 0	7.895 1	105.09
	3.892 8	4.588 8	8.619 2	103.00
	3.892 8	4.588 8	8.578 0	102.10
	3.892 8	4.588 8	8.600 8	102.60
	1.287 9	0.775 8	2.051 2	98.39
	1.287 9	0.775 8	2.047 9	97.96
	1.287 9	0.775 8	2.042 3	97.24
柚皮苷	1.287 2	0.969 7	2.237 5	98.00
	1.287 2	0.969 7	2.241 2	98.38
	1.287 2	0.969 7	2.243 8	98.65
	1.292 5	1.163 6	2.436 1	98.28
	1.292 5	1.163 6	2.429 8	97.74
	1.292 5	1.163 6	2.431 8	97.91
	1.187 3	0.820 2	2.032 4	103.04
	1.187 3	0.820 2	2.035 8	103.45
	1.187 3	0.820 2	2.039 6	103.91
	1.186 6	1.025 3	2.232 2	101.98
	1.186 6	1.025 3	2.234 5	102.20
	1.186 6	1.025 3	2.235 3	102.28
新橙皮苷	1.191 6	1.230 4	2.465 3	103.52
	1.191 6	1.230 4	2.466 9	103.65
	1.191 6	1.230 4	2.468 9	103.81
	1.197 4	1.009 9	2.168 5	96.16
	1.197 4	1.009 9	2.173 8	96.68
	1.197 4	1.009 9	2.159 2	95.24
	1.196 7	1.211 9	2.351 2	95.26
	1.196 7	1.211 9	2.352 1	95.34
	1.196 7	1.211 9	2.350 3	95.19
	1.199 5	1.514 8	2.649 2	95.70
	1.199 5	1.514 8	2.648 8	95.68
	1.199 5	1.514 8	2.650 6	95.79

3 讨论

通过实验,确定了益气和胃胶囊的含量测定方法,结果可靠,方法简便,为益气和胃胶囊的质量控制提供了依据。

表 2 3 批样品中 4 种成分含量测定结果

Tab.2 Determination results of the content of four constituents in three batches of sample				
批号	含量/(mg·g ⁻¹)			
	黄芩苷	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷
140301	7.71	2.56	2.36	2.38
140501	7.99	2.62	2.58	2.44
140701	7.99	2.62	2.62	2.42
批号	RSD/%			
	黄芩苷	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷
140301	0.10	0.46	1.28	0.58
140501	0.08	0.58	1.17	0.65
140701	0.19	0.20	1.39	0.41

比较了甲醇、乙醇、70% 甲醇、70% 乙醇提取的效果,结果乙醇提取较差,70% 甲醇、70% 乙醇提取不充分,选择甲醇作为溶剂^[4]。

采用 HPLC 法测定益气和胃胶囊中黄芩和枳壳的含量,操作方法简便、准确、重复性好。不同批号的益气和胃胶囊含量测定结果表明,黄芩和枳壳的含量测定方法精密度、重复性、加样回收率都较好,所以,此法可作为药品质量分析检验方法用来有效控制益气和胃胶囊的质量。

同时比较了 Agilent1100 高效液相色谱仪和岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪的含量测定结果,黄芩苷的含量存在一定的差异(5%),柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷差异无统计学意义。

参考文献

[1] 蒋俊春,孟建升. HPLC 法同时测定及砂和胃胶囊中橙皮苷、柚皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中华中医药学刊, 2014,32(6):1496-1498.

[2] 张静赟,刘战宏,宋愿智. 高效液相色谱法测定接骨续筋片中柚皮苷的含量[J]. 医药导报,2009,28(3):366-367.

[3] 谢贞建,焦士蓉,李恺,等. RP-HPLC 法同时测定不同产地枳实中的柚皮苷、橙皮苷及新橙皮苷[J]. 西华大学学报(自然科学版),2009,28(2):65-67.

[4] 蒋以号,吕妍,曹旻旻,等. HPLC 法测定枳壳不同炮制品中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中华中医药杂志,2011,26(3):601-603.