

HPLC法同时测定胃苏颗粒中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量

杨佳静*, 薛佳, 周华方, 李银, 张欣, 顾雪梅, 胡进维[#](扬子江药业集团江苏制药股份有限公司, 江苏泰州 225321)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)04-0372-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.04.28

摘要 目的:建立同时测定胃苏颗粒中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈柱,流动相为甲醇-醋酸-水(35:4:61, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为283 nm,进样量为5 μl,柱温为35 ℃。结果:柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷检测质量浓度分别在9.413~188.3、4.929~98.59、5.112~102.2 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9999$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤1.3%;平均加样回收率分别为101.08%、99.89%、101.46%,RSD分别为0.62%、1.35%、0.45%($n=6$)。结论:该方法简便、准确、重复性好,适用于测定胃苏颗粒中3种黄酮苷类成分的含量。

关键词 胃苏颗粒;柚皮苷;橙皮苷;新橙皮苷;高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of Naringin, Hesperidin and Neohesperidin in Weisu Granules by HPLC

YANG Jia-jing, XUE Jia, ZHOU Hua-fang, LI Yin, ZHANG Xin, GU Xue-mei, HU Jin-wei (Jiangsu Pharmaceutical Co., Ltd., Yangtze River Pharmaceutical Group, Jiangsu Taizhou 225321, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of naringin, hesperidin and neohesperidin in Weisu granules simultaneously. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Zorbax SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-acetic acid-water (35:4:61, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 283nm, and the sample size was 5 μl. The column temperature was 35 ℃. RESULTS: The linear range were 9.413-188.3 μg/mL for naringin, 4.929-98.59 μg/ml for hesperidin and 5.112-102.2 μg/ml for neohesperidin ($r=0.9999$), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.3%. The average recoveries were 101.08% (RSD=0.62%, $n=6$), 99.89% (RSD=1.35%, $n=6$) and 101.46% (RSD=0.45%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, reproducible and suitable for the content determination of 3 kinds of flavonoids in Weisu granule.

KEYWORDS Weisu granule; Naringin; Hesperidin; Neohesperidin; HPLC; Content determination

胃苏颗粒为扬子江药业集团所研制,由紫苏梗、香附、陈皮、香橼、佛手、枳壳、槟榔、鸡内金等8味药材组成,具有理气消胀、和胃止痛之效。临床研究表明,胃苏颗粒可用于治疗胃炎^[1-2]、消化性溃疡^[3-6]、功能性消化不良^[7-9]、梅核气^[10]等疾病。柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷是反映其质量的主要成分,但现行标准仅测定柚皮苷含量,故同时测定3种成分含量可有效提高其质量控制标准。为此,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法建立同时测定胃苏颗粒中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷含量的方法。

1 材料

Agilent 1260型HPLC仪(美国安捷伦公司);KH-600DB型超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司);XS204型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110722-201111、110721-201115、111857-201102);胃苏颗粒(扬子江药业集团江苏制药股份有限公司,批号:13070101、13071001、13071002、13071003);甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为自制纯化水。

* 本科。研究方向:中药产品的工艺质量。电话:0523-86977150。E-mail: yangjiajing@yangzijiang.com

[#] 通信作者:主管药师。研究方向:中药质量管理。E-mail: hujinwei@yangzijiang.com

2 方法与结果^[11-12]

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax SB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-醋酸-水(35:4:61, V/V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:283 nm;进样量:5 μl;柱温:35 ℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取柚皮苷对照品40.40 mg、橙皮苷对照品20.69 mg、新橙皮苷对照品20.53 mg,分别置于不同的50 ml量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,制成含柚皮苷753.1 μg/ml、橙皮苷394.4 μg/ml、新橙皮苷409.0 μg/ml的3种对照品贮备液。精密吸取上述对照品贮备液各25 ml,置于100 ml量瓶中,取甲醇定容至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取胃苏颗粒2 g,置于50 ml量瓶中,加水5 ml,振摇,使样品溶解,加入适量甲醇,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)25 min,放冷后用甲醇定容至刻度,用0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按胃苏颗粒制备方法,制备不含陈皮、香橼、佛手、枳壳等4味药材的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液适

量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。在该色谱条件下,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的保留时间分别是10.1、11.9、13.7 min,分离度分别为3.4、3.1,理论板数以柚皮苷峰计 ≥ 5200 。

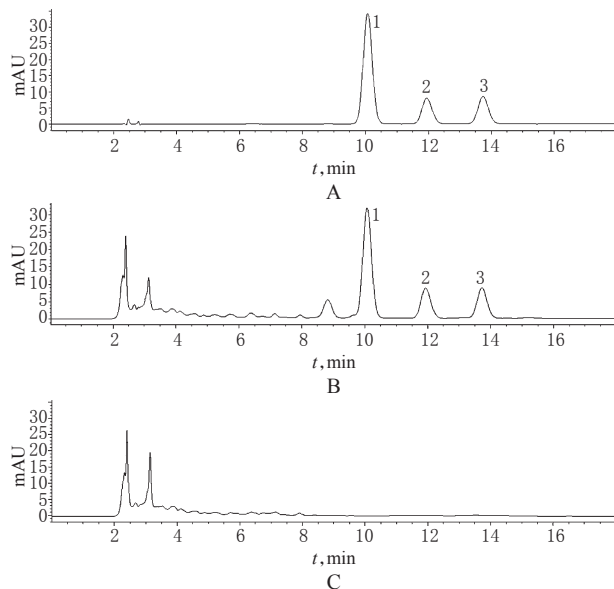


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 柚皮苷; 2. 橙皮苷; 3. 新橙皮苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. naringin; 2. hesperidin; 3. neohesperidin

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液25、12.5、10、5、2.5、1.25 ml,分别置于100 ml量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,得系列溶液,分别吸取5 μ l,按“2.1”项下色谱条件进样测定。以质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,回归方程及线性范围见表1。

表1 回归方程及线性范围

Tab 1 Results of linear range and regression equation of 3 components

成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/ml}$	r
柚皮苷	$y=9.485x+1.726$	9.413~188.3	0.999 9
橙皮苷	$y=9.460x+0.615$	4.929~98.59	0.999 9
新橙皮苷	$y=9.908x+0.520$	5.112~102.2	0.999 9

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续重复进样测定6次。结果,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的RSD分别为0.8%、0.9%、0.9%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下同一批号(13070101)供试品溶液适量,分别于放置0、2、4、8、12、18、24、30、36、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定10次。结果,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的RSD分别为1.1%、1.3%、1.2%,表明供试品溶液在48 h内质量基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批号(13070101)样品2 g,按照“2.2.2”项下

方法制备供试品溶液,重复制备6份,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的RSD分别为0.7%、0.7%、0.9%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:13070101)1 g,共6份,置于50 ml量瓶中,精密加入“2.2.1”项下3种对照品贮备液各5、2、2 ml,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=6$)

成分	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
柚皮苷	3.396	3.777	7.208	100.96		
	3.428	3.777	7.223	100.48		
	3.686	3.777	7.490	100.73		
	3.573	3.777	7.372	100.59	101.08	0.62
	3.483	3.777	7.326	101.76		
	3.674	3.777	7.524	101.94		
橙皮苷	0.966	0.779	1.746	100.09		
	0.975	0.779	1.744	98.73		
	1.049	0.779	1.832	100.60		
	1.017	0.779	1.780	98.07	99.89	1.35
	0.991	0.779	1.784	101.86		
	1.045	0.779	1.824	100.00		
新橙皮苷	1.030	0.818	1.863	101.83		
	1.040	0.818	1.862	100.60		
	1.118	0.818	1.946	101.31		
	1.084	0.818	1.914	101.53	101.46	0.45
	1.056	0.818	1.888	101.70		
	1.114	0.818	1.947	101.77		

2.9 样品含量测定

精密称取3批样品各2 g,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算各成分含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果($\text{mg/g}, n=3$)

Tab 3 Results of content determination of samples ($\text{mg/g}, n=3$)

样品批号	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷
13071001	3.54	1.15	1.09
13071002	3.62	1.09	1.15
13071003	3.67	1.05	1.11

3 讨论

3.1 检测波长的选择

分别对柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品溶液在200~900 nm波长范围内扫描,三者的最大和次大吸收峰分别在283、227 nm波长处,因在283 nm波长处吸收最强,且干扰较少,故选择283 nm为检测波长。

3.2 提取条件的选择

本研究发现,由于胃苏颗粒不溶于甲醇,故先加入少量水溶解,再加甲醇进行超声提取。此种方法具有用时短、提取迅速的特点,且各成分色谱峰形亦较好,较直接用甲醇提取的检测效果好。

HPLC法测定健脑补肾丸中人参皂苷Rg₁和Re的含量

冯家龙*(聊城市药品检验所,山东聊城 252000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)04-0374-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.04.29

摘要 目的:建立测定健脑补肾丸中人参皂苷Rg₁和Re含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent C₁₈柱,流动相为乙腈-水梯度洗脱,检测波长为203 nm,柱温为30 ℃,流速为1.0 ml/min,进样量为10 μl。结果:人参皂苷Rg₁和Re进样量分别在0.903~6.02、0.618~4.12 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 6$ 、 $0.999\ 7$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.3%;人参皂苷Rg₁和Re的平均加样回收率分别为98.3%(RSD=1.63%, $n=6$)和98.1%(RSD=1.27%, $n=6$)。结论:该方法灵敏度高、操作简便、结果准确,可用于健脑补肾丸的质量控制。

关键词 健脑补肾丸;高效液相色谱法;人参皂苷Rg₁;人参皂苷Re

Content Determination of Ginsenoside Rg₁ and Ginsenoside Re in Jiannao Bushen Pills by HPLC

FENG Jia-long(Liaocheng Institute for Drug Control, Shandong Liaocheng 252000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re in Jiannao bushen pills. METHODS: HPLC method was employed. The chromatographic column was Agilent C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 203 nm, and the column temperature was 30 ℃. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range were 0.903-6.02 μg for ginsenoside Rg₁ ($r=0.999\ 6$) and 0.618-4.12 μg for ginsenoside Re ($r=0.999\ 7$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.3%. The average recoveries of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re were 98.3% (RSD=1.63%, $n=6$) and 98.1% (RSD=1.27%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive and accurate, and can be used to control the quality of Jiannao bushen pills.

KEYWORDS Jiannao bushen pills; HPLC; Ginsenoside Rg₁; Ginsenoside Re

3.3 流动相的选择

本试验在对胃苏颗粒成分的研究中发现柚皮苷峰后面还有2个色谱峰,并通过与对照品进行比对发现为橙皮苷和新橙皮苷。进而经分析确认,3个色谱峰的理论板数及分离度均达到了试验要求,柚皮苷峰与前、后色谱峰可完全分离。因此,本方法沿用了原流动相系统,仅对保留时间作了延长。

综上所述,本方法简便、准确、重复性好,适用于测定胃苏颗粒中3种黄酮苷类成分的含量。

参考文献

- [1] 马全明.胃苏颗粒治疗胆汁反流性胃炎疗效观察[J].上海中医药杂志,2009,43(11):47.
- [2] 唐小宾,邹娅琦.胃苏颗粒+奥美拉唑+阿莫西林用于老年慢性胃炎治疗效果观察[J].中国伤残医学,2013,21(5):197.
- [3] 卫永琪.胃苏颗粒治疗幽门螺杆菌相关消化性溃疡临床研究[J].中药药理与临床,2007,23(6):76.
- [4] 廖振荣,梁小波.胃苏颗粒治疗消化性溃疡的临床疗效及其机制探讨[J].中国实用医药,2008,3(35):25.

- [5] 周华.胃苏颗粒治疗消化性溃疡210例疗效分析[J].贵阳中医学院学报,2003,25(3):14.
- [6] 王艾肖,赵莉,胡云春.胃苏颗粒联合用药治疗幽门螺杆菌相关消化性溃疡疗效观察[J].中国医院药学杂志,2006,26(8):1004.
- [7] 樊红杰,王兴华,许春艳.复方阿嗝米特联合胃苏颗粒治疗消化不良疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2013,22(3):1444.
- [8] 叶松.胃苏颗粒治疗功能性消化不良50例[J].医药导报,2002,21(12):792.
- [9] 张娥铿.胃苏颗粒联合多潘立酮治疗功能性消化不良的临床观察[J].吉林医学,2012,33(12):2475.
- [10] 冯勤.胃苏颗粒治疗梅核气38例[J].浙江中西医结合杂志,2002,12(1):60.
- [11] 李沁媛,唐亚琴,徐辉,等.高效液相色谱法测定胃苏颗粒中橙皮苷和柚皮苷含量[J].西南科技大学学报,2011,26(2):82.
- [12] 阚红玉,宋殿荣,王跃飞,等.HPLC法同时测定黄芩中5种黄酮类成分的含量[J].中国药房,2010,21(11):1016.
(收稿日期:2013-09-22 修回日期:2013-11-06)

* 主管药师。研究方向:药物分析及质量标准。电话:0635-8535586。E-mail:LCHFJL@sina.com