

HPLC 法测定女金糖浆中橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚

刘 言, 王 杰, 周 军

天津市药品检验所, 天津 300070

摘 要: 目的 建立女金糖浆中橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚的 HPLC 分析方法。方法 采用资生堂 Spolar-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为[甲醇-乙腈-0.1%磷酸(12:13:75)]-乙腈, 进行梯度洗脱; 柱温 40 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 283 nm; 进样量 10 μL。结果 橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚分别在 0.073 95~2.218 49、0.508 20~10.164 00、0.158 71~2.380 60 μg 线性关系良好, 回收率分别为 97.0%、98.9%、99.0%, RSD 值分别为 0.33%、0.41%、0.14% (n=6)。结论 该方法方便、快速、灵敏度高, 可以为女金糖浆的质量控制提供依据。

关键词: 女金糖浆; 橙皮苷; 黄芩苷; 丹皮酚; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2012)06-0579-03

Determination of hesperidin, baicalin and paeonol in Nüjin Syrup by HPLC

LIU Yan, WANG Jie, ZHOU Jun

Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of hesperidin, baicalin, and paeonol in Nüjin Syrup.

Methods The samples were separated on Shiseido Spolar-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with [methanol-acetonitrile-0.1% phosphoric acid (12:13:75)]-acetonitrile as mobile phase by gradient elution. The detection wavelength was 283 nm and column temperature was 40 ℃ with injection volume of 10 μL at a flow rate of 1.0 mL/min. **Results** The calibration curves were linear over the range of 0.073 95—2.218 49 μg, 0.508 20—10.164 00, and 0.158 71—2.380 60 μg (r=0.999 1) for hesperidin, baicalin and paeonol. The average recovery rates were 97.0%, 98.9%, and 99.0% with RSD at 0.33%, 0.41%, and 0.14%, respectively (n=6).

Conclusion This method is simple, rapid, and sensitive, and could provide the basis for the quality control of Nüjin Syrup.

Key words: Nüjin Syrup; hesperidin; baicalin; paeonol; HPLC

女金糖浆是由当归、白芍、川芎、熟地黄、党参、陈皮、黄芩、牡丹皮等 23 味中药制成的中药制剂, 具有调经养血、理气止痛的功效, 用于治疗月经不调、痛经、小腹胀痛、腰腿酸痛。其质量标准收载于卫生部药品标准中药成方制剂第 15 册^[1], 但是原标准中无含量测定项。为了更好地控制女金糖浆的质量, 本实验建立 HPLC 法同时测定女金糖浆中橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚的方法。该方法专属性强、操作简单、重现性好, 能够实现对女金糖浆多指标成分的控制。

1 仪器与试药

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪、PDA 检测器、LC-solution 色谱工作站。

甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市康科德科技有限

公司), 磷酸 (分析纯), 水为去离子水。橙皮苷 (批号 110721-201014)、黄芩苷 (批号 110721-201014)、丹皮酚 (批号 110721-201014) 对照品均由中国食品药品检定研究院提供, 供含量测定用。女金糖浆样品由天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂提供, 批号分别为 081116、090226、090307, 规格 100 mL/瓶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

资生堂 Spolar-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为[甲醇-乙腈-0.1%磷酸(12:13:75)]-乙腈, 梯度洗脱, 0~18 min, 100%A; 18~45 min, 100%A→92%A; 柱温 40 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 283 nm; 进样量 10 μL。以各成

收稿日期: 2012-10-12

作者简介: 刘 言 (1972—), 男, 天津市人, 副主任药师, 硕士, 从事药品和包装材料质量控制和研发。

Tel: (022) 23340117 E-mail: adamliuyan@126.com

分计的理论板数均大于 8 000。

2.2 对照品溶液的制备

取橙皮苷、黄芩苷、丹皮酚对照品适量，精密称定，加甲醇制成含橙皮苷 54 $\mu\text{g/mL}$ 、黄芩苷 290 $\mu\text{g/mL}$ 、丹皮酚 70 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，即得。

2.3 供试品溶液的制备

取女金糖浆样品适量，混匀，精密量取 10 mL 置 25 mL 量瓶中，加 50%乙醇稀释至刻度，摇匀，

3 000 r/min 离心 5 min，取上清液，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按处方比例及工艺，分别制成不含陈皮、黄芩和牡丹皮的阴性样品，以“2.3”项下方法制成阴性对照溶液，进样测定，结果阴性样品在与对照品色谱峰相应的位置上无干扰，表明供试品溶液中的其他成分对测定结果无影响。色谱图见图 1。

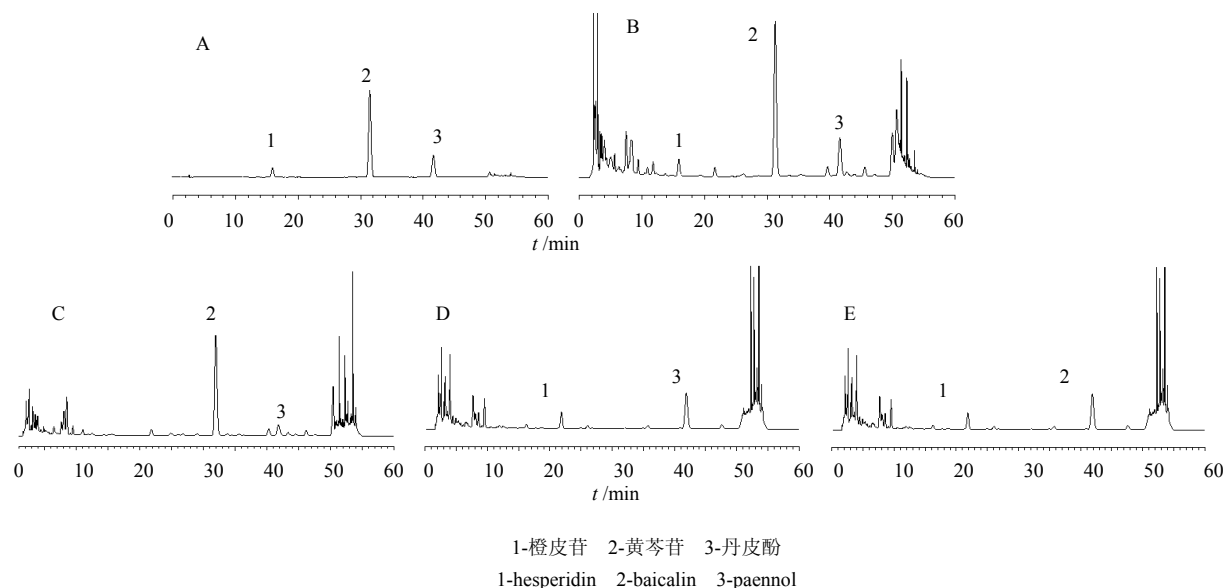


图 1 混合对照品 (A)、女金糖浆 (B)、缺陈皮阴性样品 (C)、缺黄芩阴性样品 (D)、缺牡丹皮阴性样品 (E) HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), sample (B), and negative samples without *Citri Reticulatae Pericarpium* (C), negative samples without *Scutellariae Radix* (D), and negative samples without *Moutan Cortex* (E)

2.5 线性关系考察

分别取橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚对照品适量，精密称定，加甲醇分别制成含橙皮苷 7.395 0、36.974 9、55.462 4、110.924 7、221.849 5 $\mu\text{g/mL}$ ，黄芩苷 50.820 0、152.460 0、304.920 0、609.840 0、1016.400 0 $\mu\text{g/mL}$ ，丹皮酚 15.871 0、39.677 4、79.354 8、158.709 6、238.064 4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。分别精密吸取 10 μL ，注入液相色谱仪，按以上色谱条件分析，分别测定各自峰面积。以进样质量为横坐标，峰面积值为纵坐标，得回归方程。橙皮苷： $Y=1\,717\,175.54X+65\,643.53$ ， $r=0.999\,9$ ；黄芩苷： $Y=9\,227\,413.96X-1\,2041.95$ ， $r=0.999\,9$ ；丹皮酚： $Y=5\,153\,206.37X+6\,740.64$ ， $r=0.999\,9$ 。结果表明橙皮苷在 0.073 95~2.218 49 μg 、黄芩苷在 0.508 20~10.164 00 μg 、丹皮酚在 0.158 71~2.380 60 μg 时与峰面积线性关系良好。

2.6 精密度试验

取批号 081116 女金糖浆样品适量，混匀，精密量取 10 mL，置 25 mL 量瓶中，制备供试品溶液，按以上色谱条件分析，连续进样 6 次，测定橙皮苷、黄芩苷、丹皮酚峰面积，计算得其 RSD 值分别为 1.63%、0.05%、0.09%。

2.7 稳定性试验

取批号 081116 女金糖浆供试品溶液，分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样，测定样品中橙皮苷、黄芩苷、丹皮酚峰面积，计算得其 RSD 值分别为 1.69%、0.20%、0.15%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重现性试验

取批号 081116 女金糖浆样品适量，混匀，精密量取 10 mL，共 6 份，制备供试品溶液，测定，计算得样品中橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚质量浓度分别为 0.148 4、0.880 8、0.200 8 mg/mL，RSD 值分别

为 0.72%、0.20%、0.55%。

2.9 回收率试验

取批号 081116 女金糖浆样品适量,精密量取 5 mL,共 6 份,分别置 25 mL 量瓶中,分别精密加入含橙皮苷、黄芩苷、丹皮酚 0.073 95、0.396 80、0.101 60 mg/mL 50%乙醇对照品溶液 10 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚的平均回收率分别为 97.0%、98.9%、99.0%,RSD 值分别为 0.33%、0.41%、0.14%。

2.10 样品测定

取 3 个批号的女金糖浆样品,制备供试品溶液,按以上色谱条件分析,测定,外标法计算样品中橙皮苷、黄芩苷及丹皮酚的质量浓度。结果见表 1。

表 1 女金糖浆中橙皮苷、黄芩苷和丹皮酚的测定 ($n=2$)
Table 1 Determination of hesperidin, baicalin and paennol in Nüjin Syrup ($n=2$)

批 号	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)		
	橙皮苷	黄芩苷	丹皮酚
081116	0.149 5	0.872 1	0.199 7
090226	0.146 2	0.876 9	0.200 4
090307	0.146 6	0.873 1	0.199 7

3 讨论

3.1 流动相的选择

由于橙皮苷、黄芩苷及丹皮酚的极性差异较大,为了能在较短时间内同时分析上述 3 种成分,本实验采用梯度洗脱,参考文献报道^[2]以甲醇-乙腈-0.1%磷酸及乙腈系统为流动相,经过多次试验,结果在本实验系统条件下,3 种成分均达到基线分离,色谱峰峰形较好,在 45 min 的时间内即可实现良好的分离。

3.2 检测波长的确定

橙皮苷、黄芩苷及丹皮酚的最大吸收波长分别为 283、280、274 nm。本实验采用 280 nm 作为测定波长,能够满足方法学考察的要求,简化了实验方法。

本研究建立了同时测定女金糖浆中橙皮苷、黄芩苷及丹皮酚的方法,该方法简便、快速,能够用于女金糖浆的质量控制。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂 第 15 册. WS3-B-2840-98. 1998: z15-21.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 474.