

## HPLC 法测定复方前列舒丸中 6 个活性成分

李 征<sup>1</sup>, 董 斌<sup>2</sup>, 李宪刚<sup>2</sup>

1. 辽阳市食品检验检测中心, 辽宁 辽阳 122000

2. 大连市药品检验所, 辽宁 大连 116021

**摘要:** **目的** 建立 HPLC 法同时测定复方前列舒丸中大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷 6 个活性成分的方法。**方法** 采用安捷伦 Zorbax C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱; 检测波长为 330 nm (0~20 min, 测定大车前苷)、283 nm (20~40 min, 测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷)、270 nm (40~50 min, 测定朝藿定 C、淫羊藿苷); 柱温为 35 ℃; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 5 μL。**结果** 大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷在 10.11~202.20、49.62~992.40、15.46~309.20、44.62~892.40、18.39~367.80、52.18~1 043.60 ng 与峰面积线性关系良好。大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷的平均回收率分别为 97.4%、98.8%、99.5%、98.9%、97.2%、95.6%, RSD 值分别为 0.83%、1.2%、1.4%、1.5%、1.5%、1.0%。**结论** 该方法稳定可靠、简便易行, 同时测定复方前列舒丸中大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷 6 个特征性成分, 为全面控制复方前列舒丸的质量提供了参考。

**关键词:** 复方前列舒丸; 大车前苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 朝藿定 C; 淫羊藿苷; 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(2016)02-0151-04

**DOI:**10.7501/j.issn.1674-5515.2016.02.005

## Determination of six active ingredients in Compound Qianlieshu Pills by HPLC

LI Zheng<sup>1</sup>, DONG Bin<sup>2</sup>, LI Xian-gang<sup>2</sup>

1. Liaoyang Food Inspection and Testing Center, Liaoyang 122000, China

2. Dalian Institute for Drug Control, Dalian 116021, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for simultaneous determination of six active ingredients plantamajoside, naringin, hesperidin, neohesperidin, epimedin C, and icariin in Compound Qianlieshu Pills. **Methods** The determination was carried out with Agilent Zorbax C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.1% phosphoric acid solution with gradient elution. The detection wavelengths were 330 nm in 0 — 20 min (determination of plantamajoside), 283 nm in 20 — 40 min (determination of naringin, hesperidin, and neohesperidin), and 270 nm in 40 — 50 min (determination of epimedin C and icariin). The column temperature was set at 35 ℃, and the flow rate was 1.0 mL/min with injection volume of 5 μL. **Results** There were good linear relationships of plantamajoside, naringin, hesperidin, neohesperidin, epimedin C, and icariin in the concentration ranges of 10.11 — 202.20, 49.62 — 992.40, 15.46 — 309.20, 44.62 — 892.40, 18.39 — 367.80, and 52.18 — 1 043.60 ng. The average recoveries were 97.4%, 98.8%, 99.5%, 98.9%, 97.2%, and 95.6% with RSD 0.83%, 1.2%, 1.4%, 1.5%, 1.5%, and 1.0%, respectively. **Conclusion** The method is simple and valid, and can simultaneously determine six active ingredients plantamajoside, naringin, hesperidin, neohesperidin, epimedin C, and icariin, which can be used in quantity control for Compound Qianlieshu Pills.

**Key words:** Compound Qianlieshu Pills; plantamajoside; naringin; hesperidin; neohesperidin; epimedin C; icariin; HPLC

复方前列舒丸为辽阳市中心医院生产的医院制剂, 由淫羊藿、车前草、虎杖、何首乌、猪苓、土鳖虫、枳壳、甘草 8 味中药制成, 具有补肾益气、通淋利水的功效。本实验参考《中国药典》2015 年

版一部车前草、枳壳、淫羊藿中有关成分的测定方法<sup>[1]</sup>, 采用 HPLC 梯度洗脱结合变换检测波长法同时测定处方中组方中药车前草中大车前苷<sup>[2-3]</sup>, 枳壳中柚皮苷、橙皮苷<sup>[4]</sup>、新橙皮苷<sup>[5-6]</sup>, 淫羊藿中朝藿

收稿日期: 2015-11-04

作者简介: 李 征 (1978—), 女, 辽宁省辽阳市人, 副主任药师, 沈阳药科大学理学学士, 1998 年就职于辽阳市食品药品检验所, 2015 年就职于辽阳市食品检验检测中心, 从事药品质量标准研究。Tel: (0419)2580008 E-mail: 1819802731@qq.com

定 C、淫羊藿苷<sup>[7-8]</sup> 6 个特征性成分。结果表明该方法简便、高效，为全面控制复方前列舒丸的质量提供了科学依据。

## 1 仪器与试药

Agilent 1260 高效液相色谱仪；G1314B 可变波长检测器（VWD），Sartorius R200D 型电子天平，Phenomen HU10260B 型超声波清洗器。

大车前苷（批号 111575-200502）、柚皮苷（批号 110722-201312）、橙皮苷（批号 110721-201316）、新橙皮苷（批号 111857-201102）、朝藿定 C（批号 111780-201302）、淫羊藿苷（批号 110737-200415）对照品均购自中国食品药品检定研究院。复方前列舒丸样品为辽阳市中心医院提供，大蜜丸，规格为 0.3 g/粒，批号为 150301、150302、150303。甲醇、乙腈均为色谱纯，水为二次重蒸水，其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件及系统适用性试验

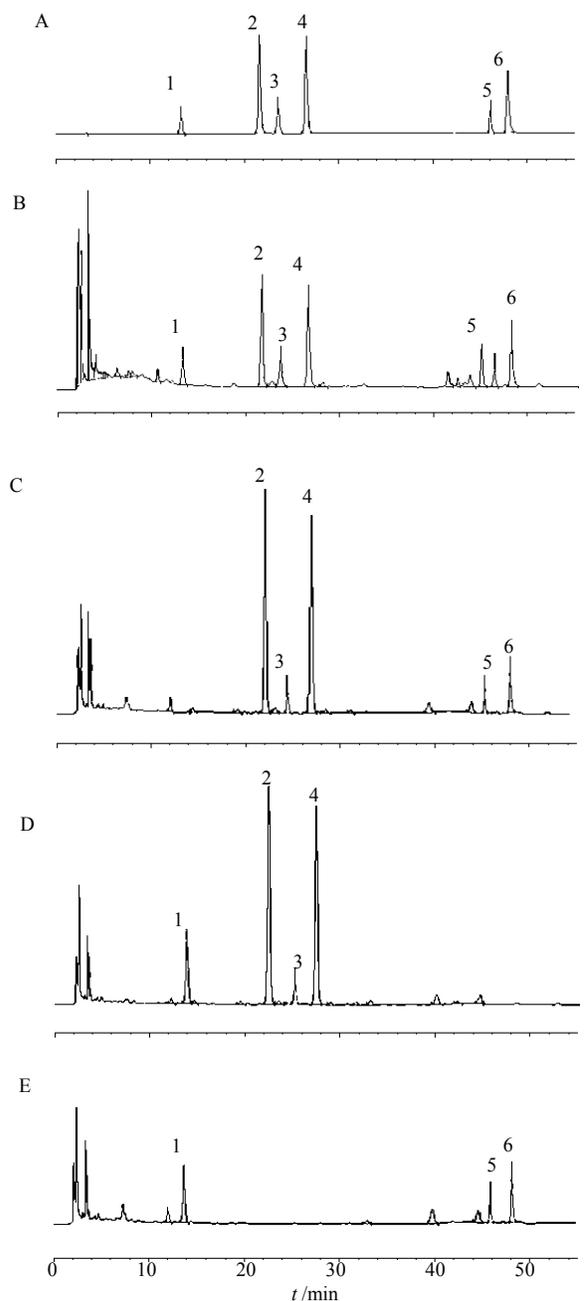
安捷伦 Zorbax C<sub>18</sub> 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-0.1%磷酸水溶液（B），梯度洗脱：0~5 min，10% A；5~30 min，10% A→30% A；30~50 min，30% A；检测波长为 330 nm（0~20 min，测定大车前苷）、283 nm（20~40 min，测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷）、270 nm（40~50 min，测定朝藿定 C、淫羊藿苷）；柱温为 35 ℃；体积流量为 1.0 mL/min；进样量为 5 μL。理论塔板数按大车前苷计算应不低于 3 000，各峰的分离度均大于 1.5。在上述色谱条件下，样品中其他成分对上述 6 种成分的测定无干扰。色谱图见图 1。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 混合对照品溶液的制备** 取大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷对照品适量，加甲醇溶液制成质量浓度分别 10.11、49.62、15.46、44.62、18.39、52.18 μg/mL 的混合对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取质量差异项下的复方前列舒丸，剪碎，取约 1 g，精密称定，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声处理（功率 300 W，频率 50 kHz）处理 30 min，放冷，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，即得。

**2.2.3 阴性样品溶液的制备** 按处方工艺及处方量，分别制备缺车前草、枳壳、淫羊藿的样品，并按“供试品溶液的制备”项下方法操作，制备阴性



1-大车前苷 2-柚皮苷 3-橙皮苷 4-新橙皮苷 5-朝藿定 C  
6-淫羊藿苷  
1-plantamajoside 2-naringin 3-hesperidin 4-neohesperidin  
5-epimedinin C 6-icariin

图 1 混合对照品 (A)、复方前列舒丸 (B)、缺车前草阴性样品 (C)、缺淫羊藿阴性样品 (D) 和缺枳壳阴性样品 (E) 的色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), Compound Qianlieshu Pills (B), negative sample without *Plantaginis Herba* (C) and negative sample without *Epimedii Folium* (D), and negative sample without *Aurantii Fructus* (E)

样品溶液, 即得。

### 2.3 线性关系考察

取混合对照品溶液, 分别进样 1、2、5、10、

15、20  $\mu\text{L}$ , 记录色谱图, 测定峰面积值。分别对各成分以峰面积为纵坐标, 进样质量为横坐标, 进行线性回归, 结果见表 1。

表 1 6 个成分的线性关系  
Table 1 Linear relation of six active ingredients

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ng
大车前苷	$Y=1\ 254.3 X+20.196$	0.999 7	10.11~202.20
柚皮苷	$Y=1\ 543.9 X+39.105$	0.999 7	49.62~992.40
橙皮苷	$Y=1\ 515.2 X+19.332$	0.999 8	15.46~309.20
新橙皮苷	$Y=1\ 715.5 X+35.458$	0.999 9	44.62~892.40
朝藿定 C	$Y=1\ 018.9 X-1.696$	0.999 5	18.39~367.80
淫羊藿苷	$Y=1\ 067.2 X-15.391$	0.999 8	52.18~1 043.60

### 2.4 精密度试验

取批号 150301 复方前列舒丸样品, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C 和淫羊藿苷峰面积的 RSD 值分别为 0.3%、0.2%、0.4%、0.2%、0.4%、0.6%。

### 2.5 稳定性试验

取批号 150301 复方前列舒丸样品, 制备供试品溶液, 分别于配制后 0、2、4、6、8、12 h 进样, 测定峰面积, 结果大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷峰面积的 RSD 值分别为 0.4%、0.2%、0.4%、0.2%、0.5%、0.7%。表明供试品溶液中 6 个成分在室温放置 12 h 稳定。

### 2.6 重复性试验

分别取批号 150301 复方前列舒丸样品约 1 g, 精密称定, 共取 6 份, 制备供试品溶液, 进样, 测定峰面积, 计算质量分数, 结果样品中大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷质量分数的 RSD 值分别为 1.2%、0.7%、1.1%、1.5%、

0.9%、1.1%。

### 2.7 回收率试验

精密称取批号 150301 复方前列舒丸样品 6 份, 各 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 0.330 9 mg/mL 大车前苷、0.350 0 mg/mL 橙皮苷对照品混合溶液 2 mL, 0.412 4 mg/mL 柚皮苷、0.360 8 mg/mL 新橙皮苷、0.152 1 mg/mL 朝藿定 C、0.407 4 mg/mL 淫羊藿苷对照品混合溶液 5 mL, 水浴蒸干, 再精密加入甲醇 25 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷的平均回收率分别为 97.4%、98.8%、99.5%、98.9%、97.2%、95.6%, RSD 值分别为 0.83%、1.2%、1.4%、1.5%、1.5%、1.0%。

### 2.8 样品测定

取复方前列舒丸适量, 制备供试品溶液, 每批样品平行操作 2 份, 以外标法分别测定 3 批复方前列舒丸样品中大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷的质量分数, 结果见表 2。

表 2 复方前列舒丸中 6 个活性成分的测定结果 ( $n=2$ )

Table 2 Determination of six active ingredients in Compound Qianlieshu Pills ( $n=2$ )

批号	质量分数( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )					
	大车前苷	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	朝藿定 C	淫羊藿苷
150301	1.322	4.052	1.413	3.490	1.494	4.041
150302	1.280	3.888	1.450	3.619	1.612	3.895
150303	1.352	4.152	1.501	3.444	1.623	3.957

### 3 讨论

#### 3.1 提取条件的选择

分别考察超声提取、加热回流等方法对 6 个成分的提取效率,结果表明超声提取法效率更高;提取溶剂考察了甲醇、50%甲醇水溶液、水,结果表明,甲醇对 6 个成分综合提取率最高;同时对甲醇用量 15、25、50、100 mL 以及超声提取时间 15、30、45 min 进行考察,最终确定采用甲醇 25 mL 超声处理 30 min 作为提取条件。

#### 3.2 流动相的确定

分别考察了乙腈 - 0.1%磷酸水溶液、乙腈 - 1%冰醋酸水溶液、乙腈 - 0.1%甲酸水溶液、甲醇 - 0.1%磷酸水溶液,结果发现采用乙腈 - 0.1%磷酸水溶液时峰型较好,基线平稳,分离效果理想,故最终选择乙腈 - 0.1%磷酸水溶液。参照相关文献,确定梯度洗脱条件,采用 HPLC 程序波长法在 50 min 内完成对大车前苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷 6 个活性成分的同时分析测定,缩短了分析时间,提高了检测效率。

复方前列舒丸处方中车前草具有利尿、清热之功效,为方中君药;枳壳可破气,辅以淫羊藿、何首乌能补肾强筋骨、祛风湿,皆为方中臣药。本实验同时测定复方前列舒丸中大车前苷、柚皮苷、橙

皮苷、新橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷 6 个特征性成分,为全面控制复方前列舒丸的质量提供了参考。

#### 参考文献

- [1] 中国药典. 2015. 一部: 69, 246, 327.
- [2] 樊化, 崔蕴慧, 利弈成, 等. HPLC 同时测定虎贞痛风胶囊中大车前苷、虎杖苷、特女贞苷、白藜芦醇的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 49-52.
- [3] 吴恋, 吕维, 王春艳, 等. 大车前草与车前草的有效成分比较 [J]. 华西药学杂志, 2014, 29(3): 262-265.
- [4] 郭丽红, 郑国钧, 苗爱东, 等. 高效液相色谱法测定解表清肺丸中柚皮苷、橙皮苷、黄芩苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1493-1495.
- [5] 黄爱华, 曹骋, 曾元儿, 等. HPLC 法测定不同规格酸橙枳实中新橙皮苷和柚皮苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1448-1450.
- [6] 宋剑锋, 冯敬骞, 胡建华, 等. HPLC 法同时测定常山胡柚花中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的量 [J]. 中草药, 2014, 45(6): 854-856.
- [7] 周岚, 乙引, 伍庆, 等. HPLC 同时测定仙灵骨葆胶囊中朝藿定 C、淫羊藿苷、补骨脂素和异补骨脂素 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1998-2000.
- [8] 高静, 周文, 刘然, 等. HPLC 同时测定补肾益寿片中朝藿定 A、B、C 和淫羊藿苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(12): 2253-2256.