

HPLC 法同时测定芙朴感冒颗粒中芦丁、橙皮苷和牛蒡苷

王伟影¹, 范蕾¹, 余华丽¹, 戴德雄²

1. 丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000

2. 浙江维康药业有限公司, 浙江 丽水 323000

摘要:目的 建立芙朴感冒灵颗粒中芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的测定方法。方法 应用 HPLC 法测定, 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱; 体积流量为 0.8 mL/min, 柱温 30 °C; 检测波长 280 nm。结果 芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的线性范围分别为 5.204~130.1 μg/mL, $r=0.999\ 0$; 1.819~145.5 μg/mL, $r=1.000\ 0$; 43.22~778.0 μg/mL, $r=0.999\ 9$; 平均加样回收率分别为 98.77%、99.52%、100.84%, RSD 分别为 1.69%、1.01%、1.59%。结论 该方法简便易行、准确、重复性好, 可用于芙朴感冒颗粒的质量控制。

关键词: 芙朴感冒颗粒; 芦丁; 橙皮苷; 牛蒡苷; HPLC

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)05-0665-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.05.013

Simultaneous determination of rutin, hesperidin, and arctiin in Fupo Ganmao Granules by HPLC

WANG Wei-ying¹, FAN Lei¹, YU Hua-li¹, DAI De-xiong²

1. Lishui Institute for Food and Drug Control, Lishui 323000, China

2. Zhejiang Welcome Pharmaceutical Co., Ltd., Lishui 323000, China

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of rutin, hesperidin, and arctiin in Fupo Ganmao Granules. **Methods** HPLC was applied with the chromatographic condition as follows: The chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 30 °C; methanol-water as the mobile phase, gradient elution; flow rate was 0.8 mL/min and the detection wavelength was 280 nm. **Results** Linear relationships were 5.204–130.1 μg/mL ($r = 0.999\ 0$), 1.819–145.5 μg/mL ($r = 1.000\ 0$), and 43.22–778.0 μg/mL ($r = 0.999\ 9$), respectively. The average recoveries were 98.77% (RSD = 1.69%), 99.52% (RSD = 1.01%), and 100.84% (RSD = 1.59%). **Conclusion** The results show that the method is simple, accurate, and repeatable, and it is suitable for the simultaneous determination of rutin, hesperidin, and arctiin in Fupo Ganmao Granules.

Key words: Fupo Ganmao Granules; rutin; hesperidin; arctiin; HPLC

芙朴感冒颗粒是由芙蓉叶、厚朴、陈皮和牛蒡子(炒)4味中药饮片制成的中药制剂,具有清热解毒、宣肺利咽、宽中理气的功效,主要用于风热或风热挟湿引起的发热头痛、咽痛、肢体酸痛等病症。其质量标准^[1]缺少定量测定项目,不能有效控制药品的质量。芙蓉叶具有清肺凉血、消肿排脓的功效,芦丁为其有效成分^[2];陈皮理气开胃、燥湿化痰,橙皮苷为其质控指标成分^[3];牛蒡子疏散风热、宣肺透疹、解毒利咽,牛蒡苷为其质控指标成分^[3]。本实验在相关研究的基础上^[4-5],采用 HPLC

法对芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的测定方法进行研究。

1 仪器与材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国安捷伦公司); XS105DU 电子天平(瑞士梅特勒公司); DL-360D 智能超声波清洗器(上海之信仪器有限公司)。

对照品芦丁(批号 100080-200707, 质量分数 90.5%)、橙皮苷(批号 0721-200010, 质量分数 100%)、牛蒡苷(批号 110819-200404, 质量分数

收稿日期: 2013-05-06

作者简介: 王伟影(1983—),女,浙江丽水人,主管中药师。Tel: (0578)2183956 E-mail: onlyying0508@gmail.com

100%)均购自中国药品生物制品检定所。芙蓉感冒颗粒,批号101125、110247、110348、110465、110510、110704、110715、110716、110720、110807、110808、110809,浙江天一堂药业有限公司。甲醇为色谱纯(Merck公司),水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水,梯度洗脱:0~35 min, 33%~43%甲醇;体积流量为0.8 mL/min;柱温30 ℃;检测波长为280 nm;进样量为5 μL。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取芦丁、橙皮苷、牛蒡苷对照品适量,分别加甲醇制成含芦丁260.2 μg/mL、橙皮苷303.2 μg/mL、牛蒡苷864.4 μg/mL的溶液,作为储备液。精密吸取3种储备液制成含芦丁9.096 μg/mL、橙皮苷26.02 μg/mL、牛蒡苷216.1 μg/mL的混合溶液,

作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取10袋芙蓉感冒颗粒的内容物,精密称定,研细,精密称取2.0 g置锥形瓶中,精密加入25 mL甲醇,密塞,称定质量,超声处理30 min,放冷至室温,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm的微孔滤膜滤过,滤液即为供试品溶液。

2.4 阴性样品溶液的制备

分别去除芙蓉叶、陈皮和牛蒡子(炒),按处方制备工艺制备阴性对照样品。按“2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.5 专属性实验

分别精密吸取“2.2、2.3、2.4”项下溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,见图1。可见,在该色谱条件下,芦丁、橙皮苷和牛蒡苷与其他成分可达到基线分离,分离度均大于1.5,具有良好的分离效果;阴性对照无干扰。

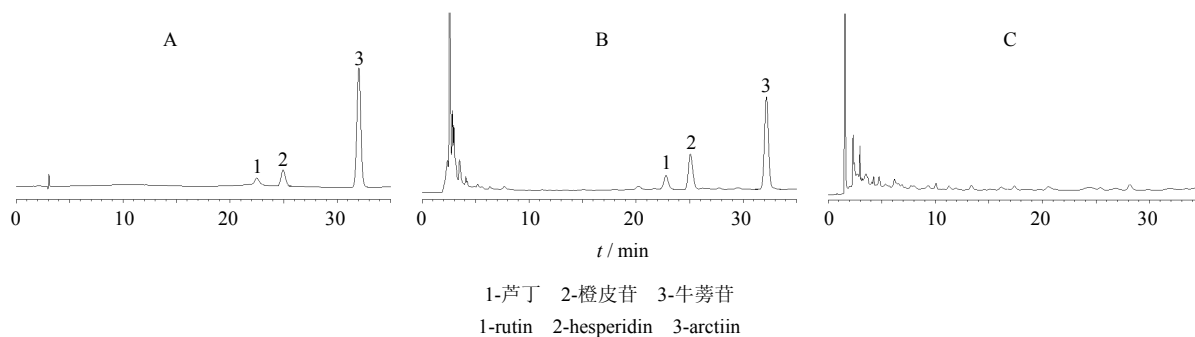


图1 混合对照品(A)、供试品(B)和阴性样品(C)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), sample (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系考察

精密吸取各对照品储备液适量,分别制成芦丁质量浓度为5.204、26.02、52.04、78.06、130.1 μg/mL,橙皮苷质量浓度为1.819、9.096、18.19、90.96、145.5 μg/mL,牛蒡苷质量浓度为43.22、216.1、432.2、605.1、778.0 μg/mL的混合对照品溶液,各进样5 μL,按上述色谱条件进行测定,分别以峰面积(Y)对质量浓度(X)进行回归分析,得芦丁回归方程为 $Y=1.929\ 03\ X+2.777\ 06$, $r=0.999\ 0$;橙皮苷回归方程为 $Y=11.540\ 39\ X+0.490\ 90$, $r=1.000\ 0$;牛蒡苷回归方程为 $Y=3\ 278.556\ 56\ X-0.002\ 71$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明,芦丁、橙皮苷和牛蒡苷分别在5.204~130.1 μg/mL、1.819~145.5 μg/mL、43.22~778.0 μg/mL呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验

取对照品溶液,按“2.1”项色谱条件连续进样5次,计算芦丁峰面积的RSD为1.48%,橙皮苷峰面积的RSD为1.30%,牛蒡苷峰面积的RSD为0.94%,结果显示精密度良好。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号110465),分别在0、2、6、14、24、30 h进样,结果芦丁峰面积的RSD为1.86%,橙皮苷峰面积的RSD为1.15%,牛蒡苷峰面积的RSD为1.61%,表明供试品溶液30 h内稳定性良好。

2.9 重复性试验

取同一批芙蓉感冒颗粒(批号110465),平行取样5份,按照“2.3”项下制备,按“2.1”项色谱条件测定,计算芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的量,分别

为 0.754、0.092、5.540 mg/g, RSD 分别为 1.56%、1.78%、1.24%。

2.10 回收率试验

取已测定的芙朴感冒颗粒样品(批号 110465) 6 份, 各约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入芦丁对照品溶液(260.2 μg/mL) 3 mL、橙皮苷对照品溶液(30.32 μg/mL) 3 mL 和牛蒡苷对照品溶液(864.4 μg/mL) 6 mL, 再分别精密加入甲醇 13 mL, 按“2.3”项下方法制备供

试品液, 按“2.1”项色谱条件测定, 测定芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的量, 计算回收率。结果芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的平均回收率分别为 98.77%、99.52%、100.84%, RSD 分别为 1.69%、1.01%、1.59%。

2.11 样品测定

取不同批号的样品约 2.0 g, 各 2 份, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下方法测定, 计算, 结果见表 1。

表 1 芙朴感冒颗粒中芦丁、橙皮苷和牛蒡苷测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of rutin, hesperidin, and arctiin in Fupo Ganmao Granules (n=2)

批号	质量分数 / (mg·g ⁻¹)			批号	质量分数 / (mg·g ⁻¹)			批号	质量分数 / (mg·g ⁻¹)		
	芦丁	橙皮苷	牛蒡苷		芦丁	橙皮苷	牛蒡苷		芦丁	橙皮苷	牛蒡苷
101125	0.186	0.118	3.851	110510	0.559	0.104	5.003	110720	0.191	0.091	4.353
110247	0.244	0.107	5.090	110704	0.256	0.111	4.031	110807	0.373	0.096	5.212
110348	0.277	0.161	5.148	110715	0.292	0.064	4.016	110808	0.711	0.160	3.133
110465	0.754	0.092	5.540	110716	0.294	0.078	4.131	110809	0.200	0.113	3.704

3 讨论

陈皮中橙皮苷的检测波长为 283 nm^[3], 牛蒡子中牛蒡苷的检测波长为 280 nm^[3], 芙蓉叶中芦丁的检测波长为 254 nm^[2], 经紫外扫描发现, 芦丁在 255、274 nm 波长处有最大吸收, 在 280 nm 波长处也有较大吸收, 故选择 280 nm 为检测波长。

陈皮中橙皮苷的检测所用流动相为甲醇-醋酸-水(35:4:61)^[3], 牛蒡子中牛蒡苷的检测所用流动相为甲醇-水(1:1.1)^[3], 芙蓉叶中芦丁的检测所用流动相为甲醇-水-冰醋酸(30:70:2.5)^[2], 预实验发现以甲醇-水进行梯度洗脱的分析效果较优, 3 种组分的理论板数均在 10 000 以上, 与其他相邻组分之间的分离度较高。

分别考察了提取溶剂甲醇的用量、超声时间对测定结果的影响, 结果发现甲醇用量超过 25 mL 时,

3 种成分的量无显著差异; 超声 30 min 时, 各组分提取完全。因此, 本实验选用 25 mL 甲醇超声处理 30 min 为样品的提取方法。

经方法学研究结果表明, 本方法具有良好的精密度、准确度和重复性, 能够同时测定芦丁、橙皮苷和牛蒡苷的量, 有效地控制芙朴感冒颗粒质量。

参考文献

- [1] 国家药品标准修改批件(2000ZFB0134) 所附标准[S]. 2000.
- [2] 孟会宁, 罗国平. HPLC 法测定木芙蓉叶中芦丁的含量[J]. 安徽医药, 2007, 8(11): 705-706.
- [3] 中国药典[S]. 一部. 2010.
- [4] 祝明. HPLC 测定芙朴感冒颗粒中牛蒡苷的含量[J]. 中成药, 2000, 8(22): 539-541.
- [5] 周伟忠, 陈国强. HPLC 法测定芙朴感冒颗粒中橙皮苷的含量[J]. 药品检测, 2002, 11(11): 36.