

高效液相测定橘红枇杷片中陈皮的橙皮苷的含量

★ 黄咏梅¹ 李红¹ 邓子杰² (1. 广州市白云区人民医院 广州 510500; 2. 广州固志医药科技有限公司 广州 510600)

关键词:橘红枇杷片;HPLC;陈皮;橙皮苷

中图分类号:R 284.1 文献标识码:B

橘红枇杷片处方是由化橘红、陈皮、枇杷叶、桔梗、紫苏子、甘草六味药组成的复方制剂,化橘红和陈皮在方中的君药,陈皮在方中的投料量较大,而陈皮又是理气健脾、燥湿化痰的主药,为保证药品质量故选用该药材中特有成分橙皮苷作为其定量指标进行研究,方法学研究如下。

1 仪器与试剂

仪器: Dionex 高效液相色谱仪, P680 HPLC Pump, ASI-100 Automated Sample Injector, UVD170 检测器, Chromeleon-HPLC management software; 色谱柱: Betasil(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 大连依利特分析仪器有限公司;

试剂:橘红枇杷片:广东怡康制药有限公司,批号:050701、050702、050703。橙皮苷对照品:中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号:110721-

200211。甲醇:色谱纯,德国 Merck corporation; 水:重蒸水;其他试剂:均为分析纯。

2 含量测定

2.1 色谱条件 检测波长及流动相的确定,参考中国药典一部陈皮项下的检测波长及流动相,选择对橙皮苷进行含量测定的检测波长为 283 nm;流动相为甲醇-醋酸-水(35:4:61),样品峰形对称,理论塔板数按峰计算不低于 2000。

2.2 对照品溶液制备 精密称取橙皮苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 40 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液制备 取本品 10 片,研细,取约 1 g,精密称定,精密加入甲醇 25 ml,称定重量,加热回流 1 小时,放冷,用甲醇补足减失的重量,滤过,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.4 测定法 分别精密吸取上述供试品溶液与

药基质中含铅量过高,长期使用有造成铅中毒的危险;橡皮膏基质吸水性和水气透过性差,长期使用会造成皮肤泛白、过敏及因黏结强度过大易造成剥离疼痛;反复揭贴性差及载药量偏低等缺点。本实验制备的凝胶贴剂采用具有良好生物相容性的卡波姆 U10 为主要组分,配以增稠剂(聚丙烯酸钠)、交联剂(三氯化铝)等,具有优良的黏结性能,作为贴剂基质材料还可以避免污染、剥离残留等现象,该凝胶贴剂作为新型外用制剂具有良好的应用前景。

外用制剂中,常用的渗透促进剂有薄荷脑、冰片、丙二醇、氮酮和萜类物质等。氮酮以使用浓度低、促透效果好、无毒无刺激性等而广泛应用。氮酮对疏水性成分和亲水性成分均有较好促渗作用,适于有效成分较多而复杂的中药制剂。本实验显示,氮酮能明显促进 6-姜酚的透皮吸收,但氮酮含量为

6%时,促渗作用与 4% 时接近,说明氮酮对本样品的促渗作用与其浓度有一定关系,但不完全呈剂量依赖性。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 66, 12, 279, 542.
- [2] 黄雪松, 宴日安. 姜酚的生物活性述评[J]. 暨南大学学报, 2005, 26(3): 434-438.
- [3] Hock S, William R. Pressure-sensitive adhesives for transdermal drug delivery systems. Pharmaceutical Science & Technology Today, 1999, 2(2): 60-69.
- [4] 张梅, 宋芹. 三七水凝胶透皮贴剂的初步研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(3): 60-61.
- [5] 胥云, 庄桂霞. 中药现代经皮给药制剂的临床应用与发展前景[J]. 中医外治杂志, 2005, 14(2): 6-7.

(收稿日期: 2008-09-17 责任编辑: 蒋力生)

对照品溶液各 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

3 方法学验证内容

3.1 专属性 按供试品溶液的制备方法陈皮阴性对照溶液, 并按含量测定项下测定法操作, 结果在与橙皮苷对照品峰的相应位置, 样品有相应的峰, 且阴性对照对测定方法无干扰, 说明本含量测定方法能准确测定橙皮苷的含量。

3.2 提取方法的考察 用甲醇为溶剂对不同提取方法超声 60 min、加热回流 60 min 提取进行了比较, 同时对残渣进行了分析, 结果表明加热回流提取较完全。测定结果见表 1。

表 1 提取方法比较

提取方法	浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	取样量/g	橙皮苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
超声	32.695	1.004 3	0.814
加热回流	36.319	0.992 6	0.915

从结果可看出以甲醇为溶剂的加热回流提取较完全, 故采用加热回流提取的方法。

3.3 线性关系的考察 分别精密吸取浓度为 43.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的橙皮苷对照溶液 2、4、6、8、10、15 μl , 按含量测定项下谱条件测定峰面积。以峰面积积分值为纵坐标, 橙皮苷的浓度为横坐标绘制标准曲线, 计算其回归方程为: 橙皮苷 $Y = 0.243 1X - 0.135 1$, 相关系数 $r = 0.999 95$, 表明橙皮苷在 6.691 ~ 64.845 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内具有良好的线性关系。

3.4 稳定性试验 取同一批供试品, 按含量测定项下操作, 制备供试品溶液, 每间隔 2 小时测定其峰面积, 结果平均峰面积为 8.593, $RSD = 0.53\%$, 表明样品在 8 小时内稳定。

3.5 精密度试验

3.5.1 仪器精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μl , 重复进样 5 次, 测定其峰面积, 结果平均峰面积为 9.993, $RSD = 0.63\%$, 可知仪器的精密度符合要求。

3.5.2 重复性试验 取同一批样品, 按供试品制备方法制备 6 份供试品溶液, 并按含量测定方法测定含量, 结果平均含量 = 0.933 mg/g , $RSD = 0.36\%$ 。

3.5.3 中间精密度试验 考察随机变动因素对精密度的影响, 采用不同日期、人员、仪器等进行试验。

用 Waters 高效液相色谱仪: 1525 Binary Pump, Rheodyne 7725iw/1500 Mount, 2487 Dual Wavelength UV Detecto, HW software; 按正文含量测定方法测定样品, 计算样品(批号: 050301)中橙皮苷的含量, 结果如下: Dionex 高效液相色谱仪测得橙皮苷的含量为: 0.933 mg/g , 与不同时间、不同操作员在 Waters 高效液相色谱仪测得结果 0.947 mg/g (样品批号

为: 050701) 相比较, 标准偏差为 1.05%。由此结果表明不同的仪器的对精密度无影响。

由重复试验及中间精密度试验表明: 该方法的精密度高, 重现性好。

3.6 准确度试验 参照 2005 版中国药典一部质量标准含量方法学考察, 采用加样回收法, 精密称取已知含量样品约 0.5 g 各 6 份(含量为 0.933 mg/g), 分别精密加入浓度为 96 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 橙皮苷对照品溶液各 5 ml, 然后精密加入甲醇 20 ml, 按正文含量测定项下方法进行测定, 计算回收率, 回收率 = $\frac{\text{测得橙皮苷总量} - \text{所取样中所含橙皮苷量}}{\text{加入橙皮苷对照品量}} \times 100\%$ 。

结果见表 2, 表明本法具有良好的回收率。

表 2 回收率试验测定结果

称样量/g	样品含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率(%)
0.501 2	0.467 6	0.48	0.946	99.67
0.502 3	0.468 7	0.48	0.945	99.25
0.499 7	0.466 2	0.48	0.944	99.54
0.511 1	0.476 9	0.48	0.947	97.94
0.498 6	0.465 2	0.48	0.938	98.50
0.500 2	0.466 7	0.48	0.943	99.23

平均回收率 = 99.02%, $n = 6$, $RSD = 0.67\%$ 。

4 样品含量测定

按正文含量测定方法对样品进行测定, 计算样品中橙皮苷的含量, 样品测定结果列于下表, 由重复性试验可知 050701 批含量为 0.933 mg/g , 其平均片重为 0.498 5 g/片, 故可得其含量为 $0.933 \times 0.498 5 = 0.465 \text{ mg/片}$ 。

表 3 样品含量测定结果 / $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$

批号	050701	050702	050703
样品 1	/	0.462	0.483
样品 2	/	0.464	0.487
平均值	0.465	0.463	0.485

5 讨论

(1) 本方法参考 2005 年版药典中陈皮的检测条件, 药典中样品的制备用乙醚提取除杂后, 用甲醇提取制备样品, 本方中陈皮是用水提制备的成品, 实验证明, 用甲醇回流直接定容, 所得样品杂质较少, 无需额外纯化, 操作方便快捷。

(2) 采用 HPLC 法测定橘红枇杷片中橙皮苷的含量, 处理方法简单, 所测结果重现性好、精密度好, 适用多种中药配伍使用的橙皮苷的定量分析。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典 2005 版(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 150.

(收稿日期: 2008-10-10 责任编辑: 曹征)