



HPLC 法同时测定陈香露白露片中7个成分的含量

张璐, 戴群芳, 陈思思

Simultaneous determination of seven constituents in Chenxiang Lubailu tablet by HPLC

ZHANG Lu, DAI Qunfang, CHEN Sisi

在线阅读 View online: <http://yxj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202202038>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

HPLC法测定皮肤病血毒片中7种成分的含量

Determination of seven components in Pifubingxuedu tablet by HPLC method

药学实践杂志. 2017, 35(5): 427-432 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.05.010

双波长高效液相色谱法同时测定复方首乌藤合剂中7种有效成分

Simultaneous determination of seven active components in compound caulis polygoni multiflori mixture by HPLC of double wavelength

药学实践杂志. 2018, 36(4): 334-337 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.04.010

用HPLC法同时测定自制复方特比萘酚软膏中3个主药成分的含量

Simultaneous determination of three components in pharmacy compounded terbinafine ointment by HPLC method

药学实践杂志. 2021, 39(3): 267-269, 279 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202007109

清脂胃舒佐餐茶HPLC法指纹图谱的研究及4个成分的含量测定

Study on fingerprint of Qingzhiweizuocan Tea and assay of four components by HPLC method

药学实践杂志. 2018, 36(4): 324-328 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.04.008

RP-HPLC法同时测定防暑清热饮中5种活性成分的含量

Simultaneous determination of five active components in Fangshu Qingre mixture by RP-HPLC

药学实践杂志. 2020, 38(5): 462-465 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202002059

HPLC法和UV法测定复方枣参片中斯皮诺素和总皂苷含量

Determination of spinosin and total saponins in compound Zaoshen tablet by HPLC and UV

药学实践杂志. 2017, 35(2): 134-137, 173 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.02.009



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

HPLC 法同时测定陈香露白露片中 7 个成分的含量

张璐, 戴群芳, 陈思思 (江西省南昌市检验检测中心, 江西 南昌 330000)

[摘要] 目的 构建同步测定陈香露白露片中甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯和去氢木香内酯含量的 HPLC 法。方法 采用 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液, 梯度洗脱, 流速 1.0 ml/min, 柱温 35 °C, 检测波长 237 nm(检测甘草苷、甘草酸铵、木香烯内酯、去氢木香内酯)、283 nm(检测橙皮苷)、330 nm(检测川陈皮素、橘皮素), 进样量 10 μl, 对采集的 16 批次样品进行 7 种成分的含量检测。结果 甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯的线性范围分别为 1.110 ~ 55.72($r=0.9992$)、22.15 ~ 1108($r=0.9995$)、6.140 ~ 307.2($r=0.9995$)、1.130 ~ 56.25($r=0.9997$)、0.3700 ~ 18.75($r=0.9982$)、0.5200 ~ 26.01($r=0.9991$)、1.180 ~ 58.95($r=0.9999$) μg/ml。回收率($n=9$)分别为 98.71%、98.12%、98.44%、98.22%、99.17%、99.18%、97.93%, RSD 分别为 0.16%、0.67%、0.57%、0.62%、0.48%、0.56%、0.58%。16 批样品中甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯的含量分别为 0.1250 ~ 1.174、2.354 ~ 7.426、1.822 ~ 27.21、0.0370 ~ 1.399、0.0723 ~ 0.4433、0.0140 ~ 0.1990、0.2207 ~ 1.407 mg/g。结论 该方法准确性高、重复性好、耐用性强, 可用于陈香露白露片的质量控制和评价。

[关键词] 高效液相色谱法; 陈香露白露片; 甘草苷; 甘草酸铵; 橙皮苷; 川陈皮素; 橘皮素; 木香烯内酯; 去氢木香内酯

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-2024(2022)06-0553-04

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202202038

Simultaneous determination of seven constituents in Chenxiang Lubailu tablet by HPLC

ZHANG Lu, DAI Qunfang, CHEN Sisi (Nanchang Inspection and Testing Center, Nanchang 330000, China)

[Abstract] **Objective** To establish the method for the simultaneous determination of liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, hesperidin, nobiletin, tangeretin, costunolide, dehydrocostuslactone in Chenxiang Lubailu tablet by HPLC. **Methods** ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ chromatographic column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid solution. Gradient elution with flow rate of 1.0 ml/min was used. Column temperature was 35 °C. Detection wavelength for liquiritin, ammonium, tangeretin, and costunolide was at 237 nm. Detection wavelength for glycyrrhizinate was at 283 nm. Detection wavelength for hesperidin and nobiletin was at 330 nm. Injection volume was 10 μl. 16 batches of samples were tested. **Results** The linear ranges for the detection of liquiritin, ammonium, glycyrrhizinate, hesperidin, nobiletin, tangeretin, and costunolide were 1.110 - 55.72 ($r=0.9992$), 22.15 - 1108 ($r=0.9999$), 6.140 - 307.2 ($r=0.9995$), 1.130 - 56.25 ($r=0.9997$), 0.3700 - 18.75 ($r=0.9982$), 0.5200 - 26.01 ($r=0.9991$), and 1.180 - 58.95 ($r=0.9999$) μg/ml respectively. The average recoveries were 98.71%, 98.12%, 98.44%, 98.22%, 99.17%, 99.18%, and 97.93%, and the RSDs were 0.16%, 0.67%, 0.57%, 0.62%, 0.48%, 0.56%, and 0.58% respectively. The contents of the seven components in 16 batches of samples were 0.1250 - 1.174, 2.354 - 7.426, 1.822 - 27.21, 0.0370 - 1.399, 0.0723 - 0.4433, 0.0140 - 0.1990, and 0.2207 - 1.407 mg/g respectively. **Conclusion** The method is accurate, reproducible and durable, which could be used to the quality control and evaluation of Chenxiang Lubailu tablet.

[Key words] HPLC; Chenxiang Lubailu tablet; liquiritin; ammonium glycyrrhizinate; hesperidin; nobiletin; tangeretin; costunolide; dehydrocostuslactone

陈香露白露片的处方由陈皮、甘草、川木香、大黄、石菖蒲五味中药和碳酸镁、氧化镁、次硝酸铋、碳酸氢钠 4 种化学药组成^[1]。方中陈皮行脾胃之气^[2,3], 为君药, 主要活性成分为橙皮苷、川陈皮

素、橘皮素, 与甘草配伍, 健脾祛湿^[4]; 甘草苷、甘草酸铵为甘草的主要活性成分; 川木香具行气止痛之效^[5], 广泛用于腹痛, 食欲不振等, 木香烯内酯、去氢木香内酯为其主要活性成分。加之碳酸氢钠等碱性药物中和胃酸^[6], 共成健胃和中、理气止痛功效。

陈香露白露片目前执行的质量标准为《卫生部

[作者简介] 张璐, 主管药师, 研究方向: 药品、食品安全风险监测, Email: 30964706@qq.com

药品标准 WS3-B-1 553-93》,该标准仅设置了化学成分的质量控制参数,难以全面反映产品质量,存在较大的安全风险。为实现陈香露白露片内在质量的有效控制,本实验构建了同步测定陈香露白露片中甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、橘皮素、川陈皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯等7种特征活性成分含量的HPLC方法。该研究不仅为提高该制剂质量提供了有效、可靠的分析方法,同时对药品安全风险评估的有效实施也具有重要的研究意义。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1260 高效液相色谱仪(安捷伦公司),配置DAD检测器;XS105DU电子天平、ME 204E电子天平(梅特勒-托利多公司);KQ-300DE数控超声仪(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试药

对照品甘草苷(批号:111610-201908,含量95.0%)、甘草酸铵(批号:110731-202021,含量96.2%)、橙皮苷(批号:110721-202019,含量95.3%)、川陈皮素(批号:112055-202001,含量99.6%)、橘皮素(批号:112054-202001,含量99.8%)、木香烯内酯(批号:111524-201911,含量99.9%)、去氢木香内酯(批号:111525-201912,含量99.5%)均购于中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈(色谱纯,赛默飞公司);其余试剂均为分析纯(购于国药集团化学试剂有限公司);实验用水为娃哈哈纯净水。16批陈香露白露片样品来自3个生产厂家:广西圣特药业有限公司(企业1),批号201207(S1)、190202(S2)、200506(S3)、210106(S4)、210107(S5)、210110(S6)、201102(S7);贵州百灵企业集团制药有限责任公司(企业2),批号20191211(S8)、20210105(S9)、20210111(S10)、20201212(S11)、20201001(S12);四川康福来药业集团(企业3),批号200902(S13)、200901(S14)、201202(S15)、200601(S16),以上样品规格均为每片重0.3g。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相A为甲醇,流动相B为0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱(0~8 min, 15% A; 8~35 min, 15% A→50% A; 35~50 min, 50% A; 50~65 min, 50% A→80% A; 65~66 min, 80% A→15% A; 66~75 min, 15% A),流速1.0 ml/min,柱

温35℃,进样量10 μl,检测波长237 nm(0~15 min,检测甘草苷)、283 nm(15~25 min,检测橙皮苷)、237 nm(25~34 min,检测甘草酸铵)、330 nm(34~45 min,检测川陈皮素、橘皮素)、237 nm(45~75 min,检测去氢木香内酯、木香烯内酯)。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液

取甘草苷、橙皮苷、甘草酸铵、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯对照品适量,精密称定,用50%甲醇配制成浓度分别为55.72、1108、307.2、56.25、18.75、26.01、58.95 μg/ml的混合对照溶液。

2.2.2 供试品溶液

取陈香露白露片样品,研细,精密称取约1g,置于锥形瓶中,精密加入25 ml 50%甲醇,超声30 min(功率250 W,频率33 kHz),放冷,精密称定,用50%甲醇补充损失的重量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性供试品溶液

分别按陈香露白露片处方中各药比例制备缺陈皮、甘草、川木香的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制成缺陈皮、甘草、川木香的阴性供试品溶液。

2.3 系统适应性试验

对照品溶液、供试品溶液及缺陈皮、甘草、川木香的阴性供试品溶液按“2.1”项下色谱条件进行测定分析。结果如图1所示,甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯等7种成分与相邻峰分离良好,分离度均大于1.5;阴性样品中其他成分色谱峰均未对7种成分产生干扰,表明该分析方法专属性良好。

2.4 线性范围考察

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液0.10、0.50、1.00、2.00、3.00、5.00 ml置于5 ml容量瓶中,用50%甲醇稀释,制备6个浓度的对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件进行测定,并绘制标准曲线,其中横坐标为对照品的浓度(X , μg/ml),纵坐标为峰面积(Y)。7种成分线性范围、线性回归方程与相关系数见表1。结果显示,7种成分分别在各自浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件重复测定6次。结果显示甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯峰面积6次测定结果的RSD分别为0.37%、0.38%、0.39%、0.42%、0.48%、0.75%、0.67%,表明

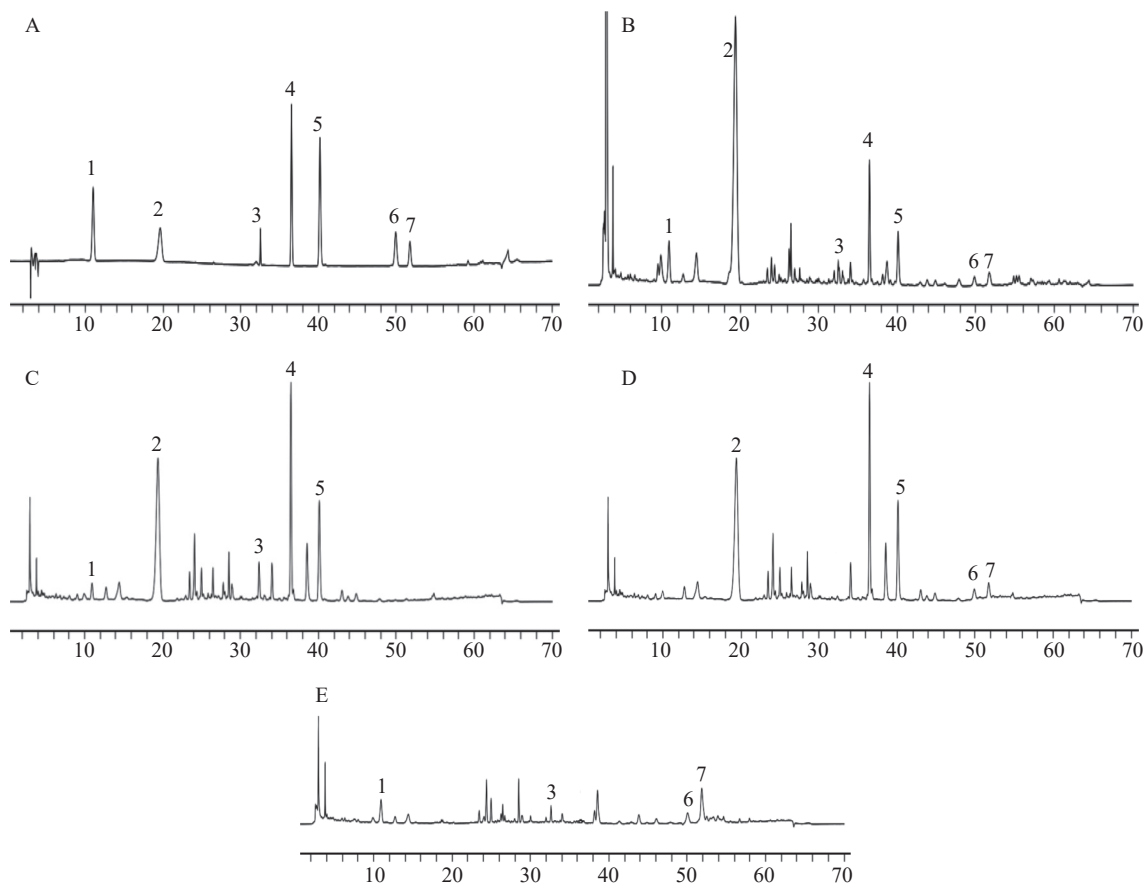


图1 陈香露白露片 HPLC 色谱图

1.甘草苷; 2.橙皮苷; 3.甘草酸铵; 4.川陈皮素; 5.橘皮素; 6.木香烯内酯; 7.去氢木香内酯;
A.混合对照品; B.供试品; C.缺川木香阴性样品; D.缺甘草阴性样品; E.缺陈皮阴性样品

表1 7种成分的线性范围、线性回归方程与相关系数

成分	线性范围($\mu\text{g/ml}$)	回归方程	r
甘草苷	1.110 ~ 55.72	$Y=17125X+155.53$	0.9992
橙皮苷	22.15 ~ 1108	$Y=5784.3X+7.1165$	0.9995
甘草酸铵	6.140 ~ 307.2	$Y=15716X+375.13$	0.9999
川陈皮素	1.130 ~ 56.25	$Y=21135X+32.117$	0.9997
橘皮素	0.3700 ~ 18.75	$Y=20148X+72.316$	0.9982
木香烯内酯	0.5200 ~ 26.01	$Y=21432X+4.1189$	0.9991
去氢木香内酯	1.180 ~ 58.95	$Y=15235X-135.15$	0.9999

该仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

按“2.2.2”项下方法平行制备6份陈香露白露片(批号: 20210105)供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果显示甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯的含量依次分别为1.158、4.002、10.68、0.0633、0.1477、0.1323、0.2927 mg/g,其RSD分别为0.62%、0.65%、0.64%、1.05%、1.62%、0.87%、1.28%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号: 20210105),放置0、4、8、12、16、20、24 h后,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果显示甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烯内酯、去氢木香内酯峰面积的RSD依次分别为0.54%、0.68%、0.72%、1.02%、0.85%、1.60%、1.32%,表明该供试品溶液在24 h内具有良好的稳定性。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的陈香露白露片(批号: 20210111)9份,每份约0.5 g,精密称定,基于样品中7种成分的含量分别按低、中、高3种浓度水平加入对照品溶液(每个浓度各3份),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进行测定,结果显示7种成分的回收率分别为98.71%、98.12%、98.44%、98.22%、99.17%、99.18%、97.93%,RSD分别为0.16%、0.67%、0.57%、0.62%、0.48%、0.56%、0.58%,表明该方法准确性高。

2.9 样品含量测定

取16批陈香露白露片样品,按“2.2.2”项下方

法制备供试品溶液,并在“2.1”项下色谱条件测定样品。外标法计算 16 批次样品中 7 种成分的含量,结果见表 2。结果显示 16 批样品中甘草苷、甘草酸铵、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、木香烃内酯、去氢木香内酯的含量分别为 0.1250~1.174、2.354~7.426、1.822~27.21、0.0370~1.399、0.0723~0.4433、0.0140~0.1990、0.2207~1.407 mg/g。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

本实验色谱条件参考《中华人民共和国药典》(2020年版)一部,237 nm 为甘草苷、甘草酸铵的检测波长^[7],225 nm 为木香烃内酯、去氢木香内酯

的检测波长^[7],对两个检测波长均进行了待测成分响应值及专属性的考察,结果显示各成分在 237 nm 波长处响应值均较高且与杂质峰分离良好,故最终选择 237 nm 作为甘草苷、甘草酸铵、木香烃内酯、去氢木香内酯等 4 种成分的检测波长。而橙皮苷、川陈皮素、橘皮素均参考药典上的检测波长^[7]。陈香露白露片中所含成分复杂,等度洗脱很难将 7 个化学成分同时分离,故采用梯度洗脱。

3.2 聚类分析

利用 SPSS 软件以 16 批陈香露白露片中 7 种有效成分含量作为变量进行聚类分析。结果如图 2 所示,16 批样品以度量值 11 为阈值,聚分为 2 大

表 2 16 批样品中 7 种成分含量测定结果 (mg/g, n=2)

批号	甘草苷	橙皮苷	甘草酸铵	川陈皮素	橘皮素	木香烃内酯	去氢木香内酯
201207	0.5967	1.822	2.354	0.0847	0.1840	0.1990	0.9440
190202	0.6090	3.513	3.413	1.399	0.2773	0.0487	1.407
200506	1.053	9.611	3.643	0.351	0.0723	0.0140	0.4123
210106	0.6203	3.634	2.682	0.0433	0.0930	0.0673	0.2647
210107	0.6433	3.855	2.761	0.0480	0.2883	0.0460	0.2207
210110	0.2047	3.034	2.689	0.3313	0.1237	0.0993	0.2907
201102	0.6677	5.209	2.613	0.1530	0.2897	0.0417	0.4200
20191211	1.107	6.832	3.724	0.4360	0.0843	0.0180	0.2243
20210105	1.158	10.68	4.002	0.0633	0.1477	0.1323	0.2927
20210111	1.174	9.624	3.971	0.0370	0.0830	0.1857	0.8773
20201212	1.085	9.204	3.860	0.0993	0.2333	0.1890	0.4257
20201001	1.055	10.333	3.682	0.8917	0.1937	0.1023	1.293
200902	0.747	8.085	2.947	0.9430	0.2137	0.0870	1.326
200901	0.8807	27.21	3.080	1.044	0.2270	0.1263	0.5503
201202	0.5473	5.573	2.584	1.144	0.2437	0.1280	0.3333
200601	0.1250	5.374	7.426	0.0883	0.4433	0.0650	0.3890

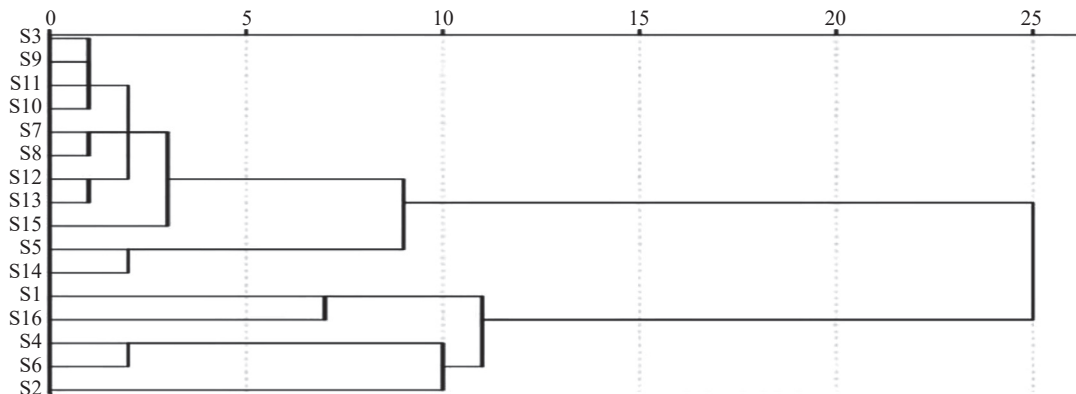


图 2 16 批样品测定结果聚类分析图