

HPLC 测定祛痰合剂中橙皮苷的含量

李国成, 刘春霞*, 余晓霞(中山大学孙逸仙纪念医院药学部, 广州 510120)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定祛痰合剂中橙皮苷的含量。方法 采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-冰醋酸-水(25:5:70), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 283 nm, 柱温 30 ℃。结果 橙皮苷线性范围是 1.05~34.56 μg·mL⁻¹, 线性方程为 $Y=10.346X+0.7952$, $r=0.9996$; 平均回收率为 98.8%, RSD 为 1.2%($n=9$)。结论 本法简便, 准确和选择性好, 可用于祛痰合剂的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 祛痰合剂; 橙皮苷

中图分类号: R917.101; R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)13-1353-03

Determination of Hesperdin in Expectorant Mixture by HPLC

LI Guocheng, LIU Chunxia*, YU Xiaoxia(Department of Pharmacy, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE An HPLC method was developed and validated for determining hesperdin in Expectorant mixture. **METHODS** Chromatographic separation was performed on an Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with a mobile phase of methanol-glacial acetic acid-distilled water(25:5:70). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detecting wavelength was 283 nm. **RESULTS** The linear range of hesperdin was 1.05–34.56 μg·mL⁻¹. Linear equation was $Y=10.346X+0.7952$ ($r=0.9996$). The average recovery ($n=9$) of hesperdin was 98.3% (RSD=1.7%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and selective and sensitive to quantify hesperdin in Expectorant mixture.

KEY WORDS: HPLC; Expectorant mixture; hesperdin

祛痰合剂是我院制剂, 由远志酊、陈皮酊、氨制茴香酊组成, 具有祛痰、止咳作用, 临床上用于治疗慢性呼吸道感染或急性炎症发作、咳嗽困难等症。经多年的临床应用观察, 其疗效显著, 深受患者喜爱。为了有效控制该制剂的内在质量, 本试验对其质量标准进行了研究。结果表明: 本法简便、

准确和选择性好, 可用于祛痰合剂的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent HP 1200 高效液相色谱仪(美国Agilent公司), 包括G1322A 自动脱气机, G1311A 自动调配四元泵, G1329A 自动进样器, G1316A 可调柱温箱, G1314B可变波长紫外检测器; Agilent 色

作者简介: 李国成, 男, 硕士, 副主任药师
Tel: (020)81332427 E-mail: lcxgz@163.com

Tel: (020)81332451

E-mail: lgcw@163.com

*通信作者: 刘春霞, 女, 副主任药师

谱化学工作站;电子天平(瑞士SARTORIUS)。橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110721-200613,纯度为100%)。甲醇为色谱纯,水为双蒸水;其他试剂均为分析纯。祛痰合剂(批号:201010141,201010142,201010143)由本院制剂室提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Eclipse XDB-C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸(25:70:5);流速:1 mL·min⁻¹;检测波长:283 nm;柱温:30 °C;进样量:5 μL。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取橙皮苷对照品适量置量瓶中,加甲醇制成浓度分别为1.05, 5.76, 11.52, 23.04, 34.56

μg·mL⁻¹的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密吸取本品20 mL置50 mL量瓶中,精密加入甲醇30 mL,超声处理60 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀作为供试品溶液。进样前取1 mL,16 000 r·min⁻¹离心5 min,取上清液进样。

2.4 阴性对照品溶液的制备

依据处方中的比例,同法制备缺陈皮的阴性对照品溶液。

2.5 测定方法

按照“2.1”项下色谱条件,精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各5 μL,分别注入液相色谱仪,色谱图见图1。结果表明,此条件下橙皮苷与其他成份分离度大于2.0,阴性对照品无干扰,橙皮苷理论板数大于3 000。

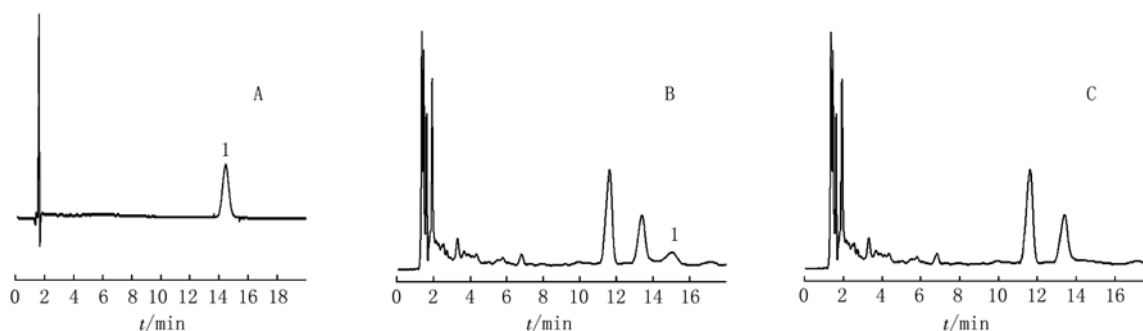


图1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; C-阴性对照品溶液; 1-橙皮苷

Fig 1 HPLC chromatogram

A-reference substance; B-sample; C-negative sample; 1-hesperidin

2.6 线性关系

取浓度分别为1.05, 5.76, 11.52, 23.04, 34.56 μg·mL⁻¹的橙皮苷对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标,橙皮苷的进样浓度为横坐标绘制标准曲线,计算得回归方程:Y=0.346X+0.795 2, r=0.999 6。结果表明橙皮苷在1.05~34.56 μg·mL⁻¹内呈良好的线性关系。

2.7 仪器精密度试验

取对照品溶液,连续进样5次,测定峰面积。结果橙皮苷峰面积的RSD为0.55%。

2.8 稳定性试验

取同一批供试品溶液(批号:201010141),分别在0, 2, 4, 6, 8, 12 h进行测定,橙皮苷峰面积RSD为1.43%。表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.9 重复性试验

取批号为201010141的样品6份,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果橙皮苷平均含量为2.75 μg·mL⁻¹, RSD=1.2%,表明方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

精密吸取5 mL已知含量(批号:201010141,橙皮苷含量为2.75 μg·mL⁻¹)供试品溶液3份,分别精密加入浓度为34.56 μg·mL⁻¹的对照品溶液2, 4, 8 mL,制成低、中、高3种浓度的溶液各3份,分别按“2.1”项下色谱条件测定,每种浓度分别进样3次,共测定9次,结果平均回收率为98.8%, RSD为1.2% (n=9)。

2.11 样品含量测定

精密吸取供试品溶液5 μL,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,分别测定3批样品(批号:201010141, 201010142, 201010143),按外标法计

算橙皮苷的含量，结果橙皮苷平均含量为 $2.75\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，RSD=1.2%。

3 讨论

对橙皮苷进行紫外区光谱扫描，表明橙皮苷在283 nm波长处有最大吸收，与中国药典2010年版^[1]关于陈皮中橙皮苷含量测定的相关内容相符，故选用该波长为测定波长。

橙皮苷的含量测定方法报道较多，大部分采用乙腈-0.4%磷酸(20：80)^[2]、甲醇-水-冰醋酸(35：61：4)^[3]，通过调整甲醇-冰醋酸-水的体积比以探寻最佳流动相比例，在三者比例为35：3：62、30：4：66 时橙皮苷分别在5.16，5.85 min出峰，但均会受到杂质干扰，最后选定的25：5：70的比

例出峰时间为14.5 min，无干扰，不耗时，峰形佳，分离效果好，故选此为流动相。

本研究建立了测定祛痰合剂中橙皮苷含量的高效液相色谱法，结果表明本法简便、准确和选择性好，可用于祛痰合剂的质量控制。

参考文献

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 177.
- [2] LI Z L, CHEN S H, CUI C L, et al. Determination of hesperidin in the stomach Tazo hesperidin by HPLC [J]. Pract Med Tech (实用医技杂志), 2004, 11(7): 1172-1173.
- [3] LV Y S. Determination of hesperidin in Pericarpium Citri Reticulatae by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2007, 11(9): 796 -797.

收稿日期：2011-1-19