

# HPLC 测定复方豆蔻合剂中橙皮苷含量

赵晓红<sup>1,2</sup>, 杨莹<sup>2</sup>, 申睿<sup>2</sup>, 雷虹<sup>2</sup>, 慕磊<sup>2</sup>, 郭琪<sup>2\*</sup>

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000; 2. 北京军区联勤部药品仪器检验所, 北京 100071)

**[摘要]** 目的: 建立 HPLC 测定复方豆蔻合剂中橙皮苷含量的方法。方法: 色谱条件为 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-2% 乙酸溶液 (35:65), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 283 nm, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL。结果: 橙皮苷在 2.084 ~ 83.36 mg·L<sup>-1</sup> 与其峰面积呈良好线性关系 ( $r = 0.9999$ ), 平均回收率 98.6%, RSD 1.8%。结论: 该方法简便准确、灵敏度高、重复性好, 为复方豆蔻合剂的质量控制提供参考。

**[关键词]** 复方豆蔻合剂; 橙皮苷; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0061-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013110061

## Determination of Hesperidin in Fufang Doukou Mixtures by HPLC

ZHAO Xiao-hong<sup>1,2</sup>, YANG Ying<sup>2</sup>, SHEN Rui<sup>2</sup>, LEI Hong<sup>2</sup>, MU Lei<sup>2</sup>, GUO Qi<sup>2\*</sup>

(1. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China;

2. Institute for Drug and Instrument Control of Beijing Military District, Beijing 100071, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a HPLC method for determining hesperidin in Fufang Doukou mixtures. **Method:** Chromatography conditions were as followings: Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of methanol-2% acetic acid (35:65), a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength at 283 nm, the column temperature at 35 °C, the injection volume 10 μL. **Result:** A good linear relationship between peak areas and the concentration of hesperidin was observed within the range of 2.084-83.36 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.9999$ ), the average recovery was 98.6% with RSD 1.8%. **Conclusion:** This method was rapid, accurate and reliable, it could provide a reference for quality control of Fufang Doukou mixtures.

**[Key words]** Fufang Doukou mixtures; hesperidin; HPLC

复方豆蔻合剂收载于 2002 年版《中国人民解放军医疗机构制剂规范》, 由豆蔻、陈皮酊、八角茴香、肉桂、甘油、姜酊、浓薄荷水加工制成, 具有芳香化湿、温中止呕、行气化痰、开胃消食的功能, 临床用于缓解胃肠胀气、胃肠绞痛、食欲不振、恶心、呕吐等症, 疗效确切<sup>[1]</sup>。目前, 复方豆蔻合剂的质量标准中只有性状、鉴别等项目, 无含量测定方法, 因此无

法全面有效地控制其质量。

陈皮具有理气健脾、燥湿化痰的功效<sup>[2]</sup>。橙皮苷为其主要成分之一, 在促进胃肠蠕动、消炎止泻方面作用明显, 同时也是该合剂的主要药效成分<sup>[3-5]</sup>。为进一步控制产品质量, 确保临床用药的有效性, 本实验采用 HPLC 测定复方豆蔻合剂中橙皮苷含量, 为复方豆蔻合剂的质量控制提供参考。

### 1 材料

1100 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), Mettler Toledo AX205 型电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司)。

橙皮苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110721-200613), 复方豆蔻合剂 (规格 100 mL/瓶, 解放军第一零七医院, 批号分别为 120302,

**[收稿日期]** 20121206(011)

**[基金项目]** 全军军队中医药科研专项课题(10ZY2204)

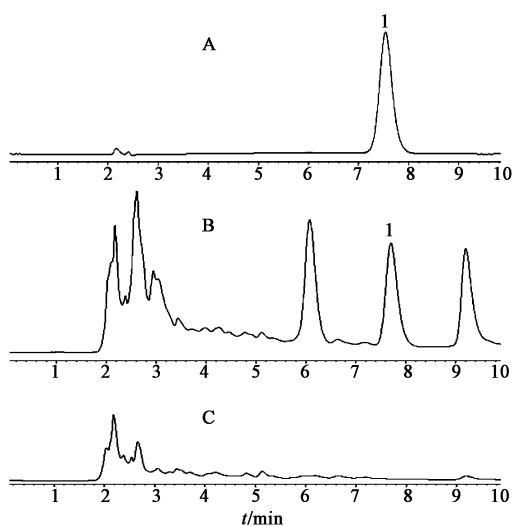
**[第一作者]** 赵晓红, 在读硕士, 从事药物分析研究, Tel: 010-66716347, E-mail: zhaoxiaohongbj@hotmail.com

**[通讯作者]** \* 郭琪, 硕士, 副主任药师, 从事中药药物分析研究, Tel: 010-66715577, E-mail: guoqi\_yjs@sina.com

111212, 110108), 药材均由北京三和药业有限公司提供, 经北京军区联勤部药品仪器检验所副主任药师郭琪鉴定, 均符合 2010 年版《中国药典》一部项下要求), 冰乙酸(国药集团化学试剂有限公司), 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-2% 乙酸溶液(35:65), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 283 nm, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL, 见图 1。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品; 1. 橙皮苷

图 1 复方豆蔻合剂 HPLC

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 精密称取橙皮苷对照品 10.42 mg, 加甲醇制成 104.2 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品储备液, 置 4 °C 冰箱中保存。

**2.2.2 供试品溶液** 精密量取复方豆蔻合剂 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 阴性对照溶液** 按处方比例及生产工艺制备缺陈皮酊的阴性样品, 按 2.2.2 项下方法制备, 即得。

**2.3 线性关系考察** 精密量取橙皮苷对照品储备液 0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 8.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 制得系列质量浓度的对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定峰面积, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得橙皮苷回归方程  $Y = 13.39X + 0.1043$  ( $r = 0.9999$ ), 表明橙皮苷在 2.084 ~ 83.36 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.4 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果峰面

积的 RSD 0.61%, 表明仪器精密度良好。

**2.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号 120302), 分别于 0, 1, 3, 6, 8, 12 h 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果橙皮苷峰面积的 RSD 1.1%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 取同一批样品 6 份(批号 120302), 按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液, 进样测定。结果样品中橙皮苷平均质量浓度 44.33 mg·L<sup>-1</sup>, RSD 0.99%, 表明该方法重复性良好。

**2.7 加样回收率试验** 精密量取 6 份已知含量的复方豆蔻合剂样品(批号 120302), 每份 2.5 mL, 分别精密加入 52.1 mg·L<sup>-1</sup> 的橙皮苷对照品溶液 2.0 mL, 按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液, 测定橙皮苷含量, 结果平均加样回收率 98.6%, RSD 1.8%。

**2.8 样品测定** 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定 3 批样品的含量(批号分别为 120302, 111212, 110108), 每个样品平行测定 3 份, 结果橙皮苷含量分别为 44.3, 47.6, 46.2 mg·L<sup>-1</sup>, RSD 分别为 1.3%, 1.1%, 1.1%。

## 3 讨论

采用 HPLC 测定橙皮苷含量的报道较多, 以甲醇-水、乙腈-水的流动相体系较为多见, 橙皮苷在这 2 种流动相体系中均可达到分离, 但峰形拖尾比较严重<sup>[6-7]</sup>。参考其他文献, 发现可在甲醇-水体系中分别添加磷酸和乙酸以改善峰形<sup>[8-10]</sup>。比较发现, 甲醇-乙酸溶液作为流动相体系的基线较磷酸体系稳定。通过比较质量分数为 1%, 2%, 3% 的冰乙酸溶液对峰形的影响, 发现 2% 冰乙酸效果最好。

比较了 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>, Agilent Zorbax SB-C<sub>8</sub>, Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱, 发现橙皮苷在 3 种色谱柱的分离效果均符合要求, 本实验选择 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 开展试验。通过比较柱温分别为 25, 30, 35 °C 对橙皮苷色谱行为的影响, 发现橙皮苷在 35 °C 条件下分离效果最好。

复方豆蔻合剂为复方制剂, 成分复杂, HPLC 测定橙皮苷含量波动较大, 推测可能与药材品种、收获季节、生产过程规范化程度等多种因素有关。因此, 提示有必要在复方豆蔻合剂的质量标准中增加橙皮苷含量测定的内容, 以保证该制剂的安全性和有效性。

## [参考文献]

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 31.

## 二母颗粒 HPLC-ELSD 指纹图谱的建立

卢君蓉, 傅超美\*, 季宁平, 胡慧玲, 林俊芝, 徐晓秋

(成都中医药大学, 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发  
利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

**[摘要]** 目的: 建立二母颗粒的 HPLC-ELSD 特征指纹图谱。方法: 采用 HPLC-ELSD, 选用 Global Chromatography C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 漂移管温度 45 °C, 增益值 1, 雾化空气流速 1.5 L·min<sup>-1</sup>。对 10 批二母颗粒样品进行 HPLC-ELSD 测定, 并与知母药材、知母浸膏的 HPLC-ELSD 图谱进行对比, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004 年版 A 进行相似度评价。结果: 10 批二母颗粒样品与知母药材、知母稠膏的相似度较高(0.960 ~ 0.998)。结论: 二母颗粒的 HPLC-ELSD 指纹图谱能更加完善二母颗粒的质量评价体系, 为其他制剂品种的“原药材-中间体-成品”的全过程控制研究提供参考。

**[关键词]** 二母颗粒; HPLC-ELSD; 指纹图谱; 相似度评价

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0063-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013110063

## Establishment of HPLC-ELSD Fingerprint of Ermu Granules

LU Jun-rong, FU Chao-mei\*, JI Ning-ping, HU Hui-ling, LIN Jun-zhi, XU Xiao-qiu

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Provincial and State Constructed Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research and Development of Chinese Herbal Medicine Resource, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish HPLC-ELSD characteristic fingerprint for Ermu granules. **Method:** HPLC-ELSD was employed, separation was carried out on Global Chromatography C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of water-acetonitrile with gradient elution, flow rate 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, temperature of drift tube maintained at 45 °C, the gain value 1, flow rate of atomizing air set at 1.5 L·min<sup>-1</sup>. Ten batches of Ermu

**[收稿日期]** 20121205(010)

**[基金项目]** 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2006BAI06A13)

**[第一作者]** 卢君蓉, 硕士, 从事中药新制剂和新剂型研究, Tel: 13688167921, E-mail: 634589580@qq.com

**[通讯作者]** \* 傅超美, 教授, 博士, 博士生导师, 从事中药新制剂和新剂型研究, Tel: 028-61800236, E-mail: chaomeifu@126.com

- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 176.
- [3] 钱俊臻, 王伯初. 橙皮苷的药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(3): 176.
- [4] 欧立娟, 刘启德. 陈皮药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2006, 17(10): 787.
- [5] 张冬松, 高慧媛, 吴立军. 橙皮苷的药理活性研究进展[J]. 中国现代中药, 2006, 8(7): 25.
- [6] 杨华, 何希荣, 顾雪竹. HPLC 测定胆疏胶囊中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 92.
- [7] 蔡梅超. HPLC 测定胃舒尔安颗粒中橙皮苷和柚皮苷的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 213.
- [8] 吴宏华, 宋剑锋. RP-HPLC 法测定补中益气颗粒中橙皮苷含量[J]. 海峡药学, 2012, 24(6): 54.
- [9] 胡志军, 陈建秋. HPLC 测定不同基原陈皮药材中橙皮苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 95.
- [10] 戴敬, 郝培培, 杨晓婧, 等. HPLC 测定女金丸中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 78.

[责任编辑 全燕]