

RP-HPLC 同时测定健儿消食口服液中橙皮苷和黄芩苷

李洪刚, 李洪斌, 杨 思

(重庆市涪陵药品检验所, 重庆 涪陵 408000)

摘 要: 目的 建立健儿消食口服液中橙皮苷和黄芩苷的定量测定方法。**方法** 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.3%磷酸溶液 (23:77), 检测波长 283 nm。**结果** 橙皮苷在 0.090 25~0.722 0 μg 呈良好的线性关系; 黄芩苷在 0.323 25~2.602 μg 呈良好的线性关系。平均回收率分别为 99.62%、98.99%; RSD 分别为 1.86%、1.66%。**结论** 本方法简便、准确、重现性好, 可用于健儿消食口服液的质量控制。

关键词: 橙皮苷; 黄芩苷; HPLC; 健儿消食口服液

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)05-0000-03

Simultaneous determination of hesperidin and baicalin in Jian'er Xiaoshi Oral Liquid by RP-HPLC

LI Hong-gang, LI Hong-bin, YANG Si

(Chongqing Fuling Institute for Drug Control, Fuling 408000, China)

Abstract: Objective To establish a method for the simultaneous determination of hesperidin and baicalin in Jian'er Xiaoshi Oral Liquid. **Methods** RP-HPLC was adopted with Agilent Eclipse XDB (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) as analytical column. The mobile phase was acetonitrile - 0.3% phosphoric acid solution (23:77). The detection wavelength was at 283 nm. **Results** The linear range of hesperidin was 0.090 25—0.722 0 μg, the average recovery was 99.62% and RSD was 1.86%. The linear range of baicalin was 0.323 25—2.602 μg, the average recovery was 98.99%, and RSD was 1.66%. **Conclusion** The method is convenient, accurate and reproducible, and can be applied to quality control of Jian'er Xiaoshi Oral Liquid.

Key Words: hesperidin; baicalin; HPLC; Jian'er Xiaoshi Oral Liquid

健儿消食口服液是由黄芪、白术、陈皮、麦冬、黄芩、山楂、莱菔子 7 味中药制成的, 具有健脾益胃、理气消食的功效, 临床上用于小儿饮食不节损伤脾胃引起的纳呆食少、脘腹胀满、手足心热、自汗乏力、大便不调, 以至厌食、恶心等症^[1-2]。原标准(《卫生部药品标准中药成方制剂第五册》)未有定量控制指标, 目前文献报道有黄芪甲苷、橙皮苷和黄芩苷定量测定的方法^[3-6]。因为陈皮、黄芩为该方的主药, 为了更好地提高制剂质量, 笔者建立了同时测定健儿消食口服液中橙皮苷和黄芩苷的定量测定方法。该法简便、快速, 结果准确、可靠, 专属性强, 重现性好, 可用于健儿消食口服液的质量控制。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 包括 G1379A 在线真空脱气机、G1311A 四元泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱、G1314A 可变波长检测器、安捷伦化学色谱工作站(美国安捷伦科技有限公司); Sartorius ME215s 型微量电子天平(德国赛多利斯仪器公司); 通用 TU-1901 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器公司)。

1.2 试药

橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所提供,

批号 110721-200211); 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 110715-200514); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余化学试剂为分析纯。健儿消食口服液(葵花药业集团重庆有限公司提供, 规格为每支 10 mL, 批号 090102、090306、090501、090612、090619、090701); 阴性对照品自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Eclipse XDB (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.3%磷酸溶液(23:77); 检测波长 283 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL; 理论板数按橙皮苷峰计算应不低于 5 000, 理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 6 000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取橙皮苷对照品 18.05 mg 和黄芩苷对照品 65.05 mg, 分别置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成橙皮苷和黄芩苷的对照品混合储备液(橙皮苷和黄芩苷的质量浓度分别为 0.361、1.301 mg/mL)。再精密吸取此储备液 5 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得橙皮苷和黄芩苷的对照品溶液(橙皮苷和黄芩苷的质量浓度分别为 0.036 1、0.130 1 mg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备

精密吸取健儿消食口服液 5 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 用力振摇, 静置 10 min。取上清液滤过, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 作为供试品溶液。

2.4 阴性对照品溶液的制备

按处方组成, 分别将除黄芩、陈皮外的其余药味, 按制备工艺要求, 制成不含黄芩、陈皮的口服液, 按“2.3”项下方法, 制备黄芩、陈皮阴性对照品溶液。

2.5 阴性对照试验

照“2.1”项下色谱条件下测定, 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪。记录色谱图(图 1), 结果从图中可见空白试验无干扰。

2.6 线性关系考察

分别精密吸取橙皮苷和黄芩苷对照品溶液 2.5、5、10、15、20 μL, 注入液相色谱仪, 分别以橙皮苷、黄芩苷质量浓度为横坐标(X)、其峰面积的积分值为纵坐标(Y)进行线性回归, 绘制标准曲线。

橙皮苷回归方程为 $Y=1.4256 \times 10^3 X + 61.2691$, $r=0.9933$, 线性范围为 0.090 25~0.722 0 μg。黄芩苷回归方程为 $Y=3.0075 \times 10^3 X + 14.633$, $r=0.9999$, 线性范围为 0.323 25~2.602 μg。

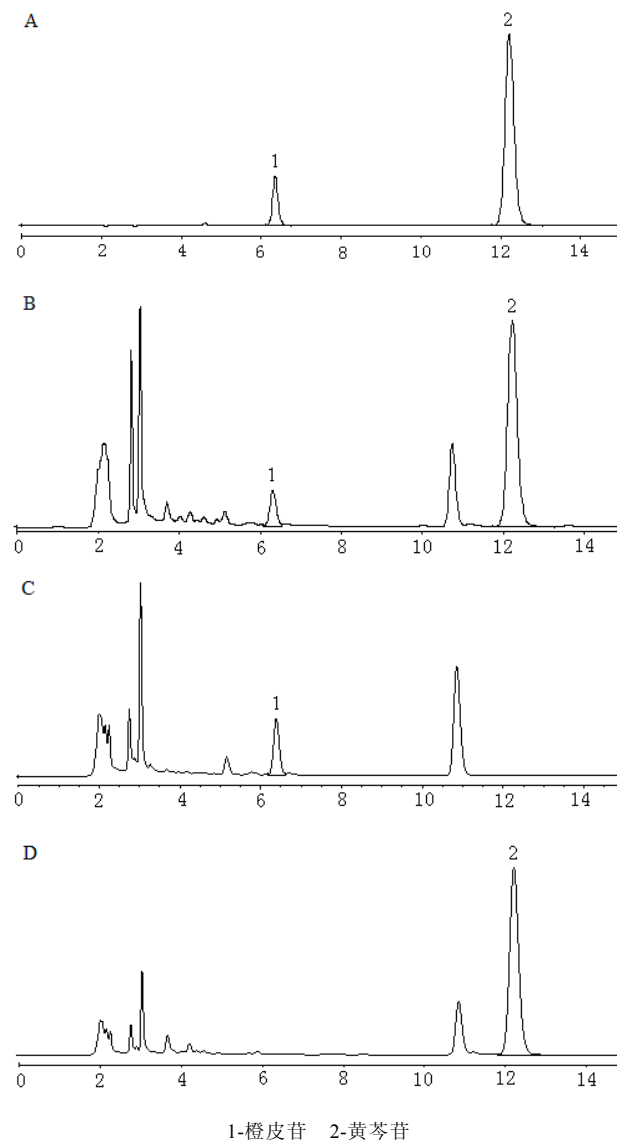


图 1 健儿消食口服液橙皮苷和黄芩苷对照品溶液(A)、供试品溶液(B)和黄芩阴性对照品溶液(C)、陈皮阴性对照品溶液(D) HPLC 图

2.7 精密度试验

精密吸取橙皮苷和黄芩苷对照品溶液 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下重复进样 6 次, 测定色谱峰面积, 结果的 RSD 分别为 0.21%、0.13%。

2.8 重现性试验

取同一批样品(批号 090612), 按“2.3”项下方法制备 5 份供试品溶液, 分别进行测定, 橙皮苷

(平均质量浓度为 0.618 mg/mL)、黄芩苷(平均质量浓度为 2.361 mg/mL)的 RSD 分别为 1.43%、1.39%。

2.9 稳定性试验

取供试品溶液(批号为 090612)在室温条件下放置 0、4、8、12、16、20、24 h, 分别进样, 测定峰面积, 结果 RSD 分别为 1.37%、1.26%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.10 回收率试验

精密吸取已知质量浓度的供试品溶液(批号 090612) 2.5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 制得 6 份, 分别精密加入橙皮苷和黄芩苷的对照品混合储备液(橙皮苷和黄芩苷的质量浓度分别为 0.361、1.301 mg/mL) 4 mL, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 用力振摇, 静置 10 min。取上清液滤过, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 计算回收率, 结果平均回收率分别为 99.62%、98.99%, RSD 分别为 1.86%、1.66%。

2.11 样品测定

取 6 批健儿消食口服液样品按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 分别注入液相色谱仪, 在“2.1”项下色谱条件下测定, 计算各供试品中橙皮苷和黄芩苷的质量浓度, 结果见表 1。

表 1 健儿消食口服液中橙皮苷和黄芩苷的测定结果

批 号	橙皮苷/(mg·mL ⁻¹)	黄芩苷/(mg·mL ⁻¹)
090102	0.705	2.356
090306	0.603	2.483
090501	0.635	2.249
090612	0.618	2.361
090619	0.597	2.235
090701	0.655	2.398

3 讨论

采用紫外分光光度法, 在 200~300 nm 波长分别对橙皮苷和黄芩苷对照品溶液进行扫描, 结果橙皮苷在 283 nm 波长处有最大吸收, 黄芩苷在 280

nm 波长处有最大吸收。而样品中橙皮苷的量较黄芩苷的量低, 为提高橙皮苷的检测灵敏度, 因此选用 283 nm 为检测波长。

经对甲醇-水-磷酸(44:56:0.2)^[4]、甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)^[5]、甲醇-水-冰醋酸(35:61:4)、乙腈-2.2%冰醋酸溶液(16:84)^[6]、乙腈-水-1%磷酸(20:80:0.2)、乙腈-0.3%磷酸溶液(23:77)以及以上流动相不同比例进行比较试验, 发现大部分流动相仅对橙皮苷或黄芩苷对照品峰的分离较好, 而仅乙腈-0.3%磷酸溶液(23:77)可使样品中橙皮苷峰和黄芩苷分离度好、峰形佳、阴性几乎无干扰, 且出峰时间合适, 故选择后者作为流动相。

曾试用乙醚、石油醚、三氯甲烷除去样品中杂质, 样品色谱图中橙皮苷峰和黄芩苷峰峰面积变小。对样品分别进行大孔树脂柱、中性氧化铝柱、聚酰胺柱提取处理, 色谱图中橙皮苷峰和黄芩苷峰分离度和含量未见改善。也试用正丁醇提取和不同浓度乙醇直接提取、不同浓度乙醇和甲醇超声处理或加热回流处理样品, 测得橙皮苷和黄芩苷的量无大差别; 本实验采用的处理方法简便易行, 能达到较佳的橙皮苷和黄芩苷分离效果, 结果准确可靠, 专属性强, 重现性好, 可用于该制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂第五册. 1992: 134.
- [2] 张洁玖, 罗丽娟. HPLC 法测定健儿消食口服液中黄芩苷的含量[J]. 中草药, 2001, 32(7): 611-612.
- [3] 田景奎, 吴丽敏, 刘建建, 等. HPLC-ELSD 测定芪体颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2004, 26(10): 812-814.
- [4] 王 娜, 黄罗生, 赵浩如. 调神攻坚颗粒中橙皮苷和黄芩苷的含量测定[J]. 江苏中医药, 2008, 40(10): 88-89.
- [5] 陈 静, 周红艳. HPLC 法测定银黄含化片中黄芩苷的含量[J]. 海峡药学, 2009, 21(6): 84-85.
- [6] 张雪原, 林晓辉, 朱吉士. 高效液相色谱法测定保和口服液

中橙皮苷含量[J]. 中国药业, 2009, 18(10): 38-39.

(收稿日期 2010-08-24)