

HPLC 法测定宁嗽化痰丸中的橙皮苷

王景文, 邢晓东

天津达仁堂京万红药业有限公司, 天津 300112

摘要: 目的 建立测定宁嗽化痰丸中橙皮苷的高效液相色谱 (HPLC) 法。方法 采用美国的 LabAlliance 仪器, 色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.5%醋酸 (39: 61); 检测波长为 284 nm, 柱温 40 °C; 体积流量 0.8 mL/min。理论板数按橙皮苷计算应不低于 3 000。结果 橙皮苷线性范围为 0.020 9~0.209 0 mg/mL, 平均加样回收率为 99.86%, RSD 值为 1.88%。结论 该方法简单、快速、准确, 可作为宁嗽化痰丸质量控制方法。

关键词: 宁嗽化痰丸; 橙皮苷; HPLC

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2014)03-0269-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.03.019

Determination of hesperidin in Ningsou Huatan Pill by HPLC

WANG Jing-wen, XING Xiao-dong

Tianjin Darentang Jingwanhong Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300112, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method to determine the content of hesperidin in Ningsou Huatan Pill. **Methods** The content of hesperidin in NingSou Huatan Pill was determined by HPCL method. The LabAlliance Apparatus from US was used, octadecyl silica bonded silica gel was used as packing agent; The mobile phase was methanol-0.5% acetic acid (39:61), with the wavelength of 284 nm, column temperature of 40 °C, and flow rate of 0.8 mL/min. The number of theoretical plates was no lower than 3 000 in terms of hesperidin. **Results** The linear scope of hesperidin was 0.0209—0.2090 mg/mL, sample recovery rate in average was 99.86%, and the RSD value was 1.88%. **Conclusion** The method with HPLC is simple, rapid, and accurate, thus can be used as quality control method of Ningsou Huatan Pill.

Key words: Ningsou Huatan Pill; hesperidin; HPLC

宁嗽化痰丸收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第九册^[1], 主要由紫菀、知母、麦冬、橘红、紫苏子(炒)、五味子、百部、款冬花等药味组成, 具有止嗽化痰、清热定喘的功效。用于多年咳嗽、老病痰喘、咽干口渴、胸闷气短、痰中带血等症。该标准无含量测定项目。橘红是宁嗽化痰丸的主要药味之一, 具有散寒、燥湿、利气、消痰功效。临床证明, 对肺癆、支气管炎、长期胃痛、止咳化痰等有独特疗效。为更好的控制该品的质量, 提高其质量标准, 选定了其主药橘红中有效成分橙皮苷作为含量测定指标, 本实验建立宁嗽化痰丸中橙皮苷含量的高效液相色谱 (HPLC) 法^[2]。该方法简单、快速、准确, 可作为宁嗽化痰丸质量控制方法。

1 仪器与试剂

仪器为美国的 LabAlliance 高效液相色谱仪,

AX205 电子分析天平 (瑞士梅特勒公司)。

甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 磷酸、醋酸 (分析纯), 超纯水器 (Millipore)。

橙皮苷对照品 (中国药品生物制品检定所购置, 批号 110721-200512; 为含量测定用对照品)。宁嗽化痰丸由天津达仁堂达二药业有限公司提供 (批号 159221、159222、159223)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.5%醋酸 (39: 61); 检测波长为 284 nm, 柱温 40 °C; 体积流量 0.8 mL/min。理论板数按橙皮苷计算应不低于 3 000。色谱图见图 1。

收稿日期: 2014-03-12

作者简介: 王景文, 女, 学士, 毕业于黑龙江商学院, 高级工程师, 主要从事新产品研究及老产品二次开发工作。Tel: (022)27796396
E-mail: wjw8320@126.com

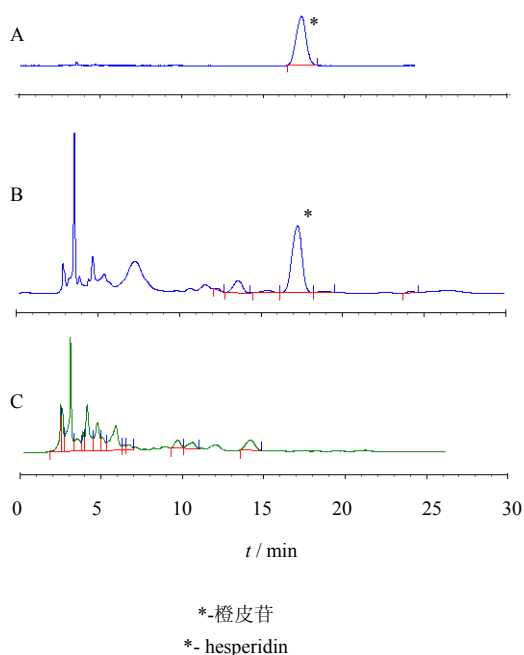


图1 橙皮苷对照品(A)、宁嗽化痰丸(B)及阴性样品(C) HPLC 谱图

Fig.1 HPLC of hesperidin (A), Ningsou Huatan Pill (B), and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备

取橙皮苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成含橙皮苷 0.030 mg/mL 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备

取同一批号的样品 1 丸,剪碎,取约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称质量,水浴加热回流 45 min,放冷,补足减失的质量,过滤,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按处方去除橘红药材,按【制法】制得样品,再按“2.3”项下供试品溶液制备方法,制得阴性样品溶液。

2.5 线性关系考察

取橙皮苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.209 0 mg/mL 的溶液,作为储备液,再分别精密量取 1、2、5、6、8 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,分别精密吸取上述 5 种浓度的对照品溶液与储备液各 10 μ L,注入液相色谱仪,按 2.1 项下色谱条件分析,测定各自峰面积,以对照品浓度 (mg/mL) 为横坐标,峰面积值为纵坐标,进行线性回归,得回归方程: $Y=1.36 \times 10^7 X+1.3 \times 10^4$, $r=0.999\ 8$ 。结果表明橙皮苷在 0.020 9~0.209 0 mg/mL 线性良好。

2.6 精密度试验

精密称取“2.2”项下对照品溶液 10 μ L,按“2.1”项下色谱条件,连续进样 5 次,测定样品中橙皮苷峰面积,测得峰面积值的 RSD 值为 0.85% ($n=5$),结果表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取同一批号 (159221) 样品,取 1 丸,剪碎,取约 2 g,按照“2.3”项下供试品溶液制备操作,按“2.1”项下色谱条件分析,分别在 0、1、4、8、16、24 h,测定样品中橙皮苷峰面积,测得峰面积值的 RSD 值为 1.46%,表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验

取同一批号 (159221) 样品 2 丸,按照“2.3”项下方法平行制备 5 份供试品溶液,进样测定,计算其质量分数的 RSD 值为 1.19%,符合要求。

2.9 回收加样试验

取同一批号 (159221) 样品 2 丸,剪碎,取约 2 g,共 6 份,精密称定,分别加入橙皮苷对照品各 2.5 mg,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,再按照“2.3”项下供试品溶液制备操作,制得供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分析,计算回收率,结果平均回收率为 99.86%,RSD 值为 1.88%。

2.10 样品测定

取 3 个批号的样品,按照“2.3”供试品溶液制备操作,按“2.1”色谱条件,测定样品中橙皮苷含量。结果见表 1。

表 1 3 批宁嗽化痰丸中橙皮苷的含量

Table 1 Contents of hesperidin in three batches of Ningsou Huatan Pill

批号	橙皮苷/(mg·丸 ⁻¹)
159221	18.03
159222	17.86
159223	17.98

处方中,橘红占处方总量的 6.56%,鉴于本品为生粉入药,按照国家药典委员会要求(生粉入药按 80%转移率计算),参照《中国药典》2010 年版一部橘红项下含量限度计算,每丸含橘红以橙皮苷 ($C_{28}H_{34}O_{15}$) 计,不得少于 3.04 mg/丸。

3 讨论

3.1 色谱条件的确定与考察

用十八烷基硅胶键合硅胶为填充剂,分别考察

了甲醇-水(40: 60)、乙腈-0.3%磷酸(20: 80)、甲醇-0.5%醋酸(39: 61)为流动相的分离效果。由于使用前两种流动相橙皮苷不能达到基线分离, 分离效果不理想, 因此采用甲醇-0.5%醋酸(39: 61)作为流动相。

3.2 提取方法的确定与考察

方法 A: 取同一批号的样品 1 丸、剪碎、取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称质量, 超声 45 min, 放冷, 补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 即得; 方法 B: 用水浴加热回流的方式提取, 其余同方法 A; 经测定样品中橙皮苷 B 法高于 A 法, 故采用甲醇加热回流方式提取。

3.3 提取时间的选择

取同一批号的样品 1 丸、剪碎、取 3 份, 每份约 2 g, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称质量, 分别水浴加热回流 30、45、60 min。放冷, 补足减失的质量, 滤过, 取续

滤液, 测定样品中橙皮苷的面积。45 min 与 30 min 测定结果的相对平均偏差为 1.27%, 故将提取时间定为 45 min。

3.4 提取溶剂用量的考察

取同一批号样品, 取约 2 g, 精密称定, 分别精密加入甲醇 50、75 mL, 称定质量, 水浴加热回流 45 min, 放冷, 称定质量, 再补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 测定样品中橙皮苷峰面积。采用甲醇 50 mL 与 75 mL, 测定结果的相对平均偏差为 0.08%, 故采用甲醇 50 mL 作为提取溶剂用量。

通过以上的试验及分析, 确定了色谱条件; 优选了供试品提取方法、提取时间、溶剂用量, 使橙皮苷提取完全, 方法简单、便于操作。

参考文献

- [1] 卫生部药品标准中药成方制剂 [S]. 第九册. 2012
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.