

高效液相色谱法测定太子金颗粒中橙皮苷的含量

仲 平 赵焕霞¹ 张 村² 刘乃强(郑州 450003 河南省药品检验所 ;¹ 三门峡 470002 三门峡市药品检验所 ;² 郑州 450003 河南中医学院)

摘要 目的 :建立 HPLC 法测定太子金颗粒中橙皮苷的含量测定方法。方法 :采用 C₁₈ 色谱柱 ,以乙腈-水-磷酸(20 :80 :0 .1) 为流动相 ,检测波长 283 nm ,进样量 10 μl 。结果 :线性范围为 20 ~ 100 μg / ml ,r = 0 .9998 ,平均回收率 = 98 .8 % ,RSD = 1 .0 % (n = 5) 。结论 :方法简便、快速、准确 ,适合该制剂中橙皮苷的含量测定。
关键词 太子金颗粒 ;橙皮苷 ;高效液相色谱法

Determination of Hesperidin in Taizijin Keli by HPLC

Zhong Ping(Zhong P) ,Zhao huanxia(Zhao HX) ,Zhang Cun(Zhang C) ,*et al* (Henan Institute of Drug Control , Zhengzhou 450003)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To establish a method for the determination of hesperidin in Taizijin Keli by HPLC. **METHOD:**The HPLC method employed a RP-C₁₈ column ,with acetonitrile-water phosphoric acid (20 :80 :0 .1) as mobile phase . the wave length of detection was 283 nm . **RESULTS:**The linear range was 20 ~ 100 μg / ml (r = 0 .9998) . The recovery was 98 .8 % with RSD = 1 .0 % (n = 5) . **CONCLUSION:**The method was simple , rapid and accurate .
KEY WORDS Taizijin Keli , hesperidin , HPLC

太子金颗粒由太子参、枳实、砂仁、鸡内金、山楂等七味中药组成。具有健脾和胃、消积增食的功能。临床上主要用于治疗小儿厌食症、消化不良、腕腹胀满、面色无华、形体消瘦、大便失调等症。为有效地控制产品质量,保证临床用药安全有效,选择活性成分明确的橙皮苷作为质控指标。橙皮苷的含量测定方法有紫外分光光度法^[1]、薄层扫描法^[2]、高效液相色谱法^[3]。本文叙述了样品经回流处理后采用 C₁₈ 色谱柱,建立一种灵敏、专属可靠的高效液相色谱法测定太子金颗粒中橙皮苷的含量,方法快速简便,结果令人满意。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Waters 2690 高效液相自动进样系统, Waters 996PAD 二极管阵列检测器, M32 色谱工作站; Mettler H35 分析天平。

1.2 试剂 橙皮苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号为 0721 - 9909);乙腈为色谱纯,其余为分析纯。所有试剂和样品均经 0 .45 μm 的滤膜过滤。

2 实验方法

2.1 色谱条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的 C₁₈ 色谱柱(4 .6 ×

200 mm),乙腈-水-磷酸(20 :80 :0 .1) 混合溶剂为流动相,脱气 20 min ,流速为 1 .0 ml / min ,柱温为 30 ℃ ,检测波长 283 nm ,进样量 10 μl 。理论板数以橙皮苷峰计 N = 4586 。

2.2 测定方法

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷对照品适量,加甲醇溶解并稀释成每 1 ml 含橙皮苷 50 μg 的溶液,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品的颗粒,研细,称取约 1 g ,精密称定,精密加甲醇 50 ml ,称定重量,置水浴上加热回流 30 min ,放置至室温,称定重量,用甲醇补充损失溶剂的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 测定法 分别取对照品溶液与供试品溶液,注入高效液相色谱仪,以峰面积外标法定量即得。

3 实验结果

3.1 测定波长的选择 取对照品溶液进样分析并进行在线实时光谱扫描,记录光谱图,橙皮苷在流动相溶液中的最大吸收波长为 283 nm 。

3.2 色谱条件的选择 先后采用 C₁₈ 色谱柱,乙腈-水(25 :75) (用磷酸调节 pH 值至 3 .0)、甲醇-0 .08 % 磷酸溶液(5 :7)、甲

醇-水-磷酸(40:60:0.1)、甲醇-水-冰醋酸(33.6:66.4:0.7)、乙腈-0.3%磷酸(17:83)、乙腈-甲醇-水-磷酸(20:0.5:80:0.7)、乙腈-水-磷酸(20:80:0.1)等十余种不同比例流动相进行比较,以乙腈-水-磷酸(20:80:0.1)混合溶剂的分离效果较好。样品色谱图见图1。

3.3 提取方法的选择

3.3.1 提取溶剂 取样品各0.5g,分别以甲醇、50%乙醇、95%乙醇、水各50ml为溶剂,加热回流提取30min,过滤,取续滤液作为供试品溶液,依法测定,结果见表1。

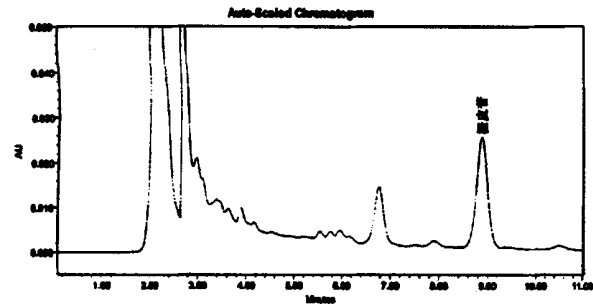


图1 样品色谱图

表1 不同溶剂提取结果

溶 剂	水	甲醇	95 %乙醇	50 %乙醇
橙皮苷面积	154999	156423	115599	122635
溶液的颜色	棕黄色	淡棕黄色	淡棕黄色	棕黄色

从测定结果看,除乙醇提取较差以外,其余橙皮苷峰面积较大且稳定,考虑溶液颜色及色谱图杂质峰大小,甲醇提取含量高且杂质少,故选择甲醇为提取溶剂。

3.3.2 提取时间 取样品各0.1g,分别加甲醇25ml,加热回流提取15min、30min、60min,滤过,滤液作为供试品溶液,依法测定,结果见表2,从表中结果看,以30min为宜。

表2 提取时间的考察结果

提取时间	15 min	30 min	60 min
橙皮苷面积	511341	524058	507642

3.4 方法学研究

3.4.1 专属性 以缺枳实药材的空白样品按同样条件提取及测定,在橙皮苷对照品色谱峰位置,未见干扰峰干扰,见色谱图2。对照品色谱图见色谱图3。证明本法对橙皮苷有专属性。

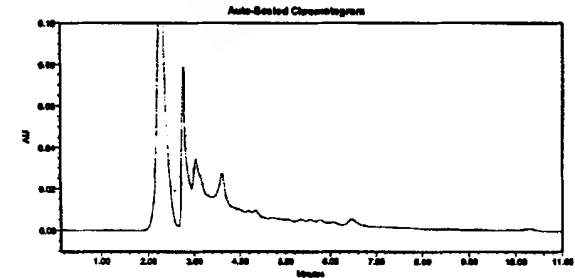


图2 空白色谱图

3.4.2 线性关系 取橙皮苷对照品用甲醇配制成20、40、60、80、100μg/ml的溶液,分别进样10μl测定,以浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线并计算回归方程。

回归方程 $Conc = 5.270 \times 10^7 A - 0.0114$ ($r = 0.9998$)

橙皮苷在 20~100μg/ml 的浓度范围内呈良好的线性关系。

3.4.3 精密度 取同一批号样品按测定方法测定 5 次,结果见表 3。

表 3 精密度试验结果

测定次数	1	2	3	4	5
浓度 (mg/ml)	0.706	0.698	0.710	0.715	0.702
平均 = 0.706			RSD = 1.0 %		

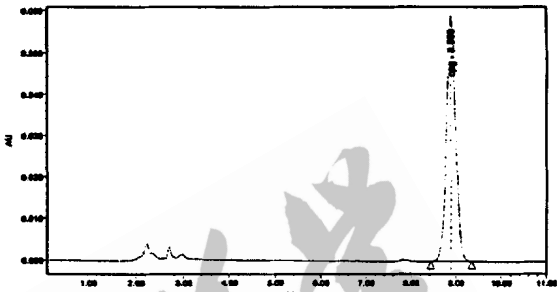


图 3 橙皮苷对照品色谱图

3.4.4 稳定性 对同一样品在不同时间内取样测定,结果见表 4。由表中结果可以看出,4h 内,橙皮苷的浓度未发生明显的变化 $RSD = 1.3 %$ 。

表 4 橙皮苷测定稳定性

时间 (h)	0	1	2	3	4	8	12	24
含量 (mg/ml)	0.710	0.715	0.705	0.695	0.695	0.689	0.680	0.667

3.4.5 回收率 取样品采用加样回收法加入橙皮苷对照品,按测定方法测定,测定结果见表 5。

表 5 加样回收率

样品量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
0.5000	0.352	0.500	0.845	98.6
0.4986	0.351	0.500	0.846	99.0
0.5966	0.420	0.250	0.668	99.2
0.5994	0.422	0.250	0.665	97.2
0.5824	0.410	0.250	0.660	100.0

平均回收率 = 98.8 % $RSD = 1.0 %$

3.4.6 样品的测定结果

取本品 3 批,按上述方法进行测定,结果见表 6。

表 6 样品的测定结果

批号	1 #	2 #	3 #
含量 (mg/ml)	0.703	0.694	0.721

4 讨论

4.1 本法研究过程中主要考察了流动相的组成和比例及提取方法的最优化,有文献报道流动相的 pH 对分离有一定的影响,经考察在流动相中加入一定量的磷酸即可,这样简化了操作。

4.2 样品的提取,曾考虑过用超声波法进行提取,但因回收率低而放弃。原设计用乙醇作溶剂,利用其对蔗糖溶解度小的特点,以减少颗粒剂中糖的溶出干扰,但经实验该溶剂溶出率最低。经考察甲醇的提取效果较佳,且杂质相对较少,虽然静置一定时间会有蔗糖晶体析出,但不影响测定结果。

参考文献

- 1 薛漓,王宝琴.三波长法测定二陈丸中橙皮苷的含量.中成药, 1991,13(2):14.
- 2 常珉,蒋敏,李安娟.枳实及其三种中成药中橙皮苷的荧光薄层扫描定量法.药物分析杂志,1990,10(2):94.
- 3 王铁军,郭绪林,张京平.高效液相色谱法测定增生消散液中橙皮苷的含量.中国中药杂志,1997,22(1):323.

收稿日期:2001-08-29