

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.15.016

高效液相色谱法测定苏佛顺气颗粒中橙皮苷含量

彭艺飞, 李佳霖

(四川省乐山市中医医院, 四川 乐山 614000)

摘要:目的 建立测定苏佛顺气颗粒中橙皮苷含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱采用 Agilent C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-冰乙酸-水(33:65:2, V/V/V, pH=7.6), 检测波长为 280 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 28 ℃, 进样量为 10 μL。结果 橙皮苷质量浓度在 2.0~40.0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.999\ 5$ ($n=6$); 平均回收率为 101.49%, RSD 为 2.61% ($n=6$)。结论 该方法操作简单, 专属性强, 重复性好, 可用于苏佛顺气颗粒的含量测定和质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 苏佛顺气颗粒; 橙皮苷; 含量测定; 质量控制

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)15-0062-03

Content Determination of Hesperidin in Sufo Shunqi Granules by HPLC

PENG Yifei, LI Jialin

(Leshan Traditional Chinese Medicine Hospital, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: **Objective** To establish a method for the content determination of hesperidin in Sufo Shunqi Granules by high performance liquid chromatography(HPLC). **Methods** The chromatographic column was Agilent C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column, the mobile phase was methanol-glacial acetic acid-water(33:65:2, V/V/V, pH=7.6), the detection wavelength was 280 nm, the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 28 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** Hesperidin showed good linear relationship with the peak area in the range of 2.0~40.0 μg/mL, $r=0.999\ 5$ ($n=6$); the average recovery was 101.49%, $RSD=2.61\%$ ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, specific and reproducible, which can be used for the content determination and quality control of Sufo Shunqi Granules.

Key words: high performance liquid chromatography; Sufo Shunqi Granules; hesperidin; content determination; quality control

苏佛顺气颗粒为乐山市中医医院的院内制剂,由佛手、红参、川贝母、檀香、木蝴蝶、紫苏梗等中药材组方,为棕色颗粒,气微香,味微苦,主要用于治疗胃脘胀满、食欲不振、大便溏薄等症^[1-3],用于气虚型胃炎,症见神疲乏力。佛手为方中主药,性温,味辛、苦、酸,归肺经、脾经、肝经^[4-6]。橙皮苷为佛手的主要化学成分,其含量能有效反映佛手的质量差异。为更好地控制苏佛顺气颗粒的质量,建立其质量标准,参考文献[7-10],本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法对其主药佛手中指标性成分橙皮苷进行了含量测定。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);ESJ220-4A 型电子分析天平(郑州南北仪器设备有限公司,精度为万分之一);MJ100 型超声波清洗机(无锡市美极超声设备有限公司,功率为 500 W,频率为 40 kHz);PH-1C 型 pH 计(上海智光仪器仪表有限公司);恒温水浴锅(上海析达仪器有限公司)。

1.2 试剂

橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号为 181033-101125,纯度为 96%);甲醇(色谱纯,天津市康科德科技有限公司);冰乙酸、乙醇(成都市科龙化工试剂厂);苏佛颗粒(四川省乐山市中医医院自制,

批号分别为 190329, 190407, 190418, 190426, 190507, 190516)。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

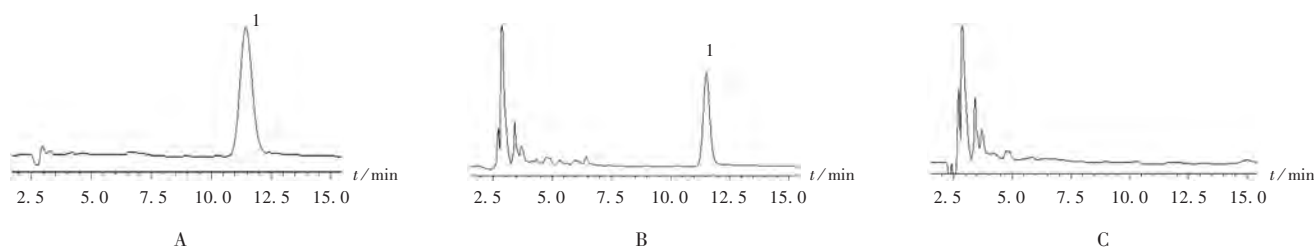
称取橙皮苷对照品 10 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加入甲醇使其溶解,并稀释至刻度(质量浓度为 1.0 mg/mL),摇匀,放置,作为对照品贮备液。取 1 mL,置 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,作为对照品溶液(质量浓度为 100 μg/mL)。称取样品 5 g,精密称定,研碎,放入瓶中,加甲醇 50 mL,超声处理 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣按上述方法继续提取 2 次,合并滤液,即得供试品溶液。另取不含佛手样品的其他组分中药材,按院内制剂处方工艺及生产标准,制备不含佛手成分的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-冰乙酸-水(33:65:2, V/V/V, pH=7.6);流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:28 ℃;进样量:10 μL。在此色谱条件下,分别取 2.1 项下 3 种溶液进行系统适用性试验,结果阴性对照品溶液在橙皮苷出峰处无相应色谱峰。色谱图见图 1。

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密吸取 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0,



1. 橙皮苷
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

4.0 mL 对照品溶液,分别置 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释定容,摇匀,分别取 10 μ L 注入液相色谱仪,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度(X)为横坐标、峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 1\,995X - 135.8$, $r = 0.999\,5$ ($n = 6$)。结果表明,橙皮苷质量浓度在 2.0 ~ 4.0 μ g/mL 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验:取同一对照品溶液,按拟订色谱条件连续进样测定 6 次,记录色谱图。结果的 RSD 为 1.34% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为 190329)适量,精密称定,依法制备供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 时按拟订色谱条件连续进样测定。结果的 RSD 为 2.07% ($n = 6$),表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为 190329)适量,精密称定,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件连续进样 6 次,测定,记录峰面积,计算橙皮苷含量。结果平均含量为 3.201 mg/g, RSD 为 1.66% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为 190329)样品 6 份,每份 0.3 g,精密加入对照品溶液 0.2 mL,依法制备供试品溶液并测定含量,计算回收率。结果见表 1。

表1 加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(μ g)	加入量(μ g)	测得量(μ g)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.300 2	12.05	20	32.73	103.40		
0.300 5	12.02	20	32.82	104.00		
0.300 4	12.02	20	31.85	99.15	101.49	2.61
0.298 0	11.92	20	32.24	101.60		
0.302 2	12.09	20	32.76	103.35		
0.299 6	11.98	20	31.47	97.45		

2.4 样品含量测定

取 6 批(批号分别为 190329, 190407, 190418, 190426, 190507, 190516)样品,依法制备供试品溶液,并连续进样测定,记录峰面积,根据线性回归方程计算橙皮苷含量。结果 6 批样品的含量分别为 1.246, 1.365, 1.208,

1.462, 1.312, 1.525 mg/g。由于每批药材产地和生产周期不同,其含量略有差异,但均符合院内制剂相关标准。

3 讨论

佛手有疏肝理气、和胃止痛、改善气血、提高免疫、止咳平喘祛痰等功效,属理气药^[10]。为避免药物成分之间相互干扰,故设计了阴性对照品试验。本研究中采用对佛手中橙皮苷的含量测定作为苏佛顺气颗粒的质量控制标准之一^[11]。结果显示,橙皮苷在阴性对照品试验中有突出的特征峰,易判别。

目前,对于佛手中橙皮苷的检测,方法较成熟,参考钟艳梅等^[12]的检测方法中以甲醇-冰乙酸-水为流动相,参考其比例和 pH,选择甲醇-水-冰乙酸(33:65:2, V/V/V)及 pH = 7.6 的条件下,与其他成分顺利洗脱,得到橙皮苷线性回归方程。橙皮苷属易挥发物质,因此在制备供试品溶液时,温度应低于 60 $^{\circ}$ C,避免橙皮苷随高温而挥发。本试验中采用 HPLC 法测定苏佛顺气颗粒中主药佛手中指标性成分橙皮苷的含量,阴性无干扰,方法重复性好,具有可操作性,可用于苏佛顺气颗粒的含量测定及质量控制。

参考文献:

- [1] 魏莹,陈珍,杨兰,等. HPLC 法同时测定不同产地佛手中 5 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2180-2184.
- [2] 许茹,钟凤林,王树彬. 中药佛手的本草考证[J]. 中药材, 2017, 40(8): 1975-1978.
- [3] 邓祥,黄小梅,王芬. 川佛手中多酚类物质的微波和超声波联合提取工艺优化[J]. 化学研究, 2017, 28(3): 353-358.
- [4] 周龙艳,田奥飞,胡旭光. 佛手化学成分及调节糖脂代谢紊乱药理作用研究进展[J]. 广东化工, 2017, 44(7): 146-148.
- [5] 张娜. 佛手在开发保健食品中的应用研究进展[J]. 山东化工, 2016, 45(11): 51-52.
- [6] 夏雨,王雁胜,张延杰,等. 佛手果营养与活性成分测定及降血脂功能研究[J]. 食品科技, 2016, 41(2): 70-73.
- [7] 李妍怡,巩婷,樊省安,等. 佛手养心汤治疗中年人失眠症 40 例[J]. 中医研究, 2016, 29(1): 21-23.
- [8] 严玮. 佛手化学成分和药理作用研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2015, 31(8): 788-790.