

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.03.019

高效液相色谱法测定复方半夏片中橙皮苷含量

张东霞, 张火旺

(广东省河源市药品检验所, 广东 河源 517000)

摘要:目的 建立测定复方半夏片中橙皮苷含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Capcell PAK C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(20:80, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 283 nm, 进样量为 5 μL。结果 橙皮苷进样量在 0.206 6~2.066 0 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r=1.000, n=5$); 精密度、重复性、稳定性试验的 RSD 分别为 0.06%, 0.44%, 0.03%; 平均加样回收率为 99.66%, RSD 为 0.30% ($n=6$)。结论 所建立的方法操作简便、结果准确、稳定性好, 可用于复方半夏片的质量控制。

关键词: 复方半夏片; 橙皮苷; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2023)03-0084-03

Determination of Hesperidin in Compound Banxia Tablets by HPLC

ZHANG Dongxia, ZHANG Huowang

(Heyuan Institute for Drug Control, Heyuan, Guangdong, China 517000)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of hesperidin in Compound Banxia Tablets. **Methods** The chromatographic column was Capcell PAK C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (20:80, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 283 nm, and the injection volume was 5 μL. **Results** The linear range of hesperidin was 0.206 6-2.066 0 μg ($r=1.000, n=5$). The RSDs of precision, repeatability and stability tests were 0.06%, 0.44% and 0.03% respectively. The average recovery of hesperidin was 99.66% with an RSD of 0.30% ($n=6$). **Conclusion** The established method is simple, accurate and stable, which can be used for the quality control of Compound Banxia Tablets.

Key words: Compound Banxia Tablets; hesperidin; HPLC; content determination

复方半夏片由姜半夏、麻黄、远志、桔梗、前胡、陈皮、白前、款冬花、细辛9味中药组方。方中, 陈皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 具有理气健脾、燥湿化痰功效, 常用于治疗脘腹胀满、食少吐泻、咳嗽痰多等; 款冬花为菊科植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾, 具有润肺下气、止咳化痰功效, 常用于治疗新旧咳嗽、喘咳痰多、劳嗽咳血等^{[1]199-200, 346-347}。橙皮苷是陈皮和款冬花的主要有效成分, 为二氢黄酮衍生物, 在提高人体免疫力、抗炎、抗菌、抗病毒、保护心血管系统等方面具有重要作用^[2]。《中华人民共和国卫生部药品标准 中药成方制剂(第三册)》WS₃-B-0581-91 中仅有鉴别项^[3], 难以控制其质量。为有效控制含橙皮苷的药品质量^[4-16], 本研究建立了测定复方半夏片中橙皮苷含量的高效液相色谱法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); CPA225D 型电子天平(赛多利斯科学仪器<北京>有限公司, 精度为十万分之一); DTC-15F 型超声波清洗

机(湖北鼎泰生化科技设备制造有限公司, 功率为 300 W, 频率为 40 kHz); UPW-20N 型超纯水器(北京历元电子仪器有限公司)。

1.2 试剂

橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 110721-202019, 纯度 ≥ 95.3%); 复方半夏片(河源市源城区誉盛大药房, 批号分别为 210301028, 210601015, 210701036); 乙腈、磷酸均为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Capcell PAK C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液(20:80, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 283 nm; 进样量: 5 μL。

2.2 溶液制备

取橙皮苷对照品适量, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 即得质量浓度为 0.206 6 mg/mL 的对照品溶液。取样品 10 片, 研细, 取 1.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率为 300 W, 频率为 40 kHz) 30 min, 放

第一作者: 张东霞, 女, 大学本科, 中药师, 研究方向为药品检验及质量标准, (电话)0762-3220381(电子信箱)365777033@qq.com。

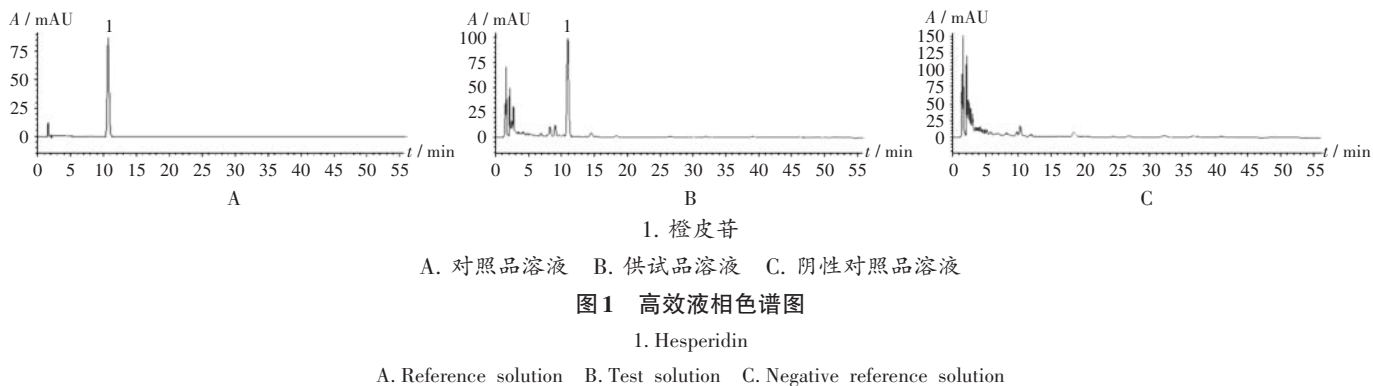


Fig. 1 HPLC chromatograms

冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,用0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方及工艺^[3]制备缺陈皮和款冬花阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:分别吸取2.2项下3种溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,供试品溶液色谱图中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应吸收峰,且阴性对照无干扰。橙皮苷峰理论板数均大于6 000,分离度均大于2。色谱图见图1。

线性关系考察:分别精密量取2.2项下对照品溶液1,3,5,7,10 μL ,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积积分值(Y)为纵坐标、进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 1\,708\,158.63X + 10\,857.02$ ($r = 1.000, n = 5$)。结果表明,橙皮苷进样量在0.206 6~2.066 0 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.2项下对照品溶液5 μL ,按2.1项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结果的 RSD 为0.06% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批(批号为210301028)样品适量,共6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果橙皮苷含量的 RSD 为0.44% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一批(批号为210301028)样品适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0,2,4,8,12 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为0.03% ($n = 5$),表明供试品溶液在室温下12 h内稳定性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为210301028)0.75 g,精密称定,共6份,置25 mL容量瓶中,分别加入质量浓度为1.406 0,2.812 0,4.218 0 mg/mL的对照品溶液,平行2份,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n = 6$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.752 1	2.820 4	1.406 0	4.221 9	99.68	99.66	0.30
0.753 3	2.824 9	1.406 0	4.230 5	99.97		
0.752 8	2.823 0	2.812 0	5.618 0	99.40		
0.753 5	2.825 6	2.812 0	5.635 3	99.92		
0.752 1	2.820 4	4.218 0	7.005 7	99.22		
0.755 6	2.833 5	4.218 0	7.041 2	99.76		

2.4 样品含量测定

取3批(批号分别为210301028, 210601015, 210701036)样品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量,每批样品测3次,取平均值。结果样品中橙皮苷含量分别为3.751 3,3.165 9,3.968 2 mg/g ($n = 3$),故暂定复方半夏片中橙皮苷定量限为3.0 mg/g。

3 讨论

3.1 提取方法选择

以甲醇为溶剂,分别对同一批(批号为210301028)样品超声提取30,45,60 min。结果超声30 min和45 min时橙皮苷的含量较高,提取效果差异不明显。故认为在超声30 min时可基本提取完全。

3.2 流动相选择

以橙皮苷常用流动相乙腈-水溶液、甲醇-醋酸-水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液进行预试验。结果发现,以乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相时橙皮苷能与其他组分的色谱峰很好地分离,分离度符合要求,且峰形对称而尖锐,理论板数达到6 000以上。故确定乙腈-0.1%磷酸水溶液(20:80, V/V)为流动相。

3.3 检测波长选择

采用二极管阵列检测器,在190~400 nm波长范围内对橙皮苷对照品溶液进行扫描,结果在283 nm波长处有最大吸收,与2020年版《中国药典(一部)》^[1]¹⁹⁹中橙皮苷的测定波长一致。故确定283 nm为检测波长。