

[文章编号] 1007 - 0893 (2017) 18 - 0014 - 02

DOI: 10.16458/j.cnki.1007 - 0893.2017.18.006

高效液相色谱法同时测定枳壳饮片中 4种黄酮类化合物的含量

刘俊波 常晓平 徐金玲

(许昌市食品药品检验检测中心, 河南 许昌 461000)

[摘要] 目的: 观察枳壳饮片中4种黄酮类化合物含量采用高效液相色谱法同步测定的效果。方法: 应用 Waters2695 高效液相色谱仪对枳壳饮片中新橙皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、柚皮苷4种黄酮类化合物的含量进行测定。结果: 在操作时, 取同一份供试品溶液, 按上述色谱条件进样, 对峰面积记录, 新橙皮苷峰面积相对标准偏差 (RSD) 为 1.0%, 柚皮芸香苷为 0.21%, 橙皮苷为 0.23%, 柚皮苷为 0.40%。结论: 采用高效液相色谱法对枳壳饮片中4种黄酮类化合物含量进行测量, 具有简便、重复性好、准确、快速等优点, 有较高应用价值。

[关键词] 高效液相色谱法; 枳壳饮片; 黄酮类化合物

[中图分类号] R 284 [文献标识码] A

枳壳属芸香科, 是《中国药典》收录的一味草药, 具行滞消胀、理气宽中功效, 为酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其进行栽培变种等系列操作后呈干燥状态的一种未成熟果实^[1]。临床常将其用于胃下垂、胸胁气滞、食积不化等疾病治疗。黄酮类成分橙皮苷、柚皮苷、柚皮芸香苷等是枳壳最多见的活性成分。《中华人民共和国药典(2015年版)》对枳壳中柚皮苷的含量采用高效液相法进行测定的资料有所记载, 枳壳制剂及饮片中新橙皮苷、橙皮苷含量的测定方法也时有报道, 但柚皮芸香苷含量方面的研究尚少^[2]。笔者采用高效液相色谱法, 对枳壳水提取物中分布的4种黄酮类化合物含量进行同时测定, 效果理想, 现回顾如下。

1 资料与方法

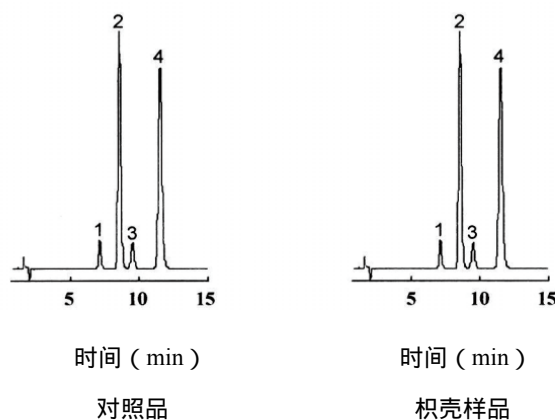
1.1 一般资料

准备 Waters2695 高效液相色谱仪, AT201 型十万分之一电子天平, Millipore 超纯水机。新橙皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、柚皮苷对照品均为自制, 经高效液相色谱法面积归一化法测定和经光谱分析含量分别为 95.8%, 97.4%, 97.8%, 96.8%; 枳壳生品样品共 8 批, 麸炒枳壳样品共 27 批, 购自不同产地及不同地区药店; 色谱纯为乙腈, 其它试剂为分析纯。

1.2 方法

(1) 色谱条件: 柱温调整为 30°C, 检测波长设置为 283 nm, 进样量设置为 10 μL, 在此色谱条件线, 可达到对新橙皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、柚皮苷的基线分离。见图 1; (2) 对照品溶液: 对新橙皮苷约 10 mg、柚皮芸香苷对照

品约 1 mg、橙皮苷对照品约 1 mg、柚皮苷对照品约 10 mg 分别精密称取, 于同一 10 mL 量瓶中放置, 取甲醇加入以达溶解状态, 并稀释至刻度, 行充分摇匀处理, 即可对对照品原溶液获得; (3) 供试品溶液: 对枳壳饮片 10 g 称取, 作粉碎处理, 过 60 目筛, 对 1.0 g 精密称取, 于圆底烧瓶中放置, 取 20 mL 水加入, 完成水浴加热回流提取操作, 时间为 1 h, 在行放冷处理后, 滤过, 取 20 mL 水加入药渣, 采用同样的方式完成 2 次提取操作, 过滤, 并将过滤液进行合并, 减压浓缩, 向 10 mL 量瓶移置, 加水予以定容, 即为实验用供试品原液, 再对供试品原液精密量取 1 mL, 于 10 mL 量瓶中放置, 取水加入进行稀释操作并定容, 应用 0.45 μm 微孔滤膜进行滤过处理, 即对供试品溶液获得。



(1. 柚皮芸香苷, 2. 柚皮苷, 3. 橙皮苷, 4. 新橙皮苷)

图 1 高效液相色谱图

[收稿日期] 2017 - 06 - 11

[作者简介] 刘俊波, 男, 主管药师, 主要研究方向是药品质量及标准。

2 结果

2.1 检出限考察及线性关系

对含新橙皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、柚皮苷对照品原溶液适量称取,依次用流动相稀释浓度,在上述色谱条件下测定,对峰面积记录。依据对照品浓度、对照品峰面积行线性回归分析。结果显示,新橙皮苷在 $0.59 \sim 982.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内具良好线性关系 ($r = 0.9998$);柚皮芸香苷在 $0.074 \sim 123.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内具良好线性关系 ($r = 0.9999$);橙皮苷在 $0.072 \sim 120.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内具良好线性关系 ($r = 0.9998$);柚皮苷在 $0.60 \sim 999.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内具良好线性关系 ($r = 0.9996$)。新橙皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、柚皮苷最低检测浓度依次为 $2.95 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $3.70 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $3.60 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $3.00 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2 精密度试验

对同一份对照品溶液抽取,依据上述色谱条件,重复 5 次进样,连续实施 5 d 测定,每日行 5 次重复进样,对峰面积记录,新橙皮苷日内峰面积相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为 0.31%,柚皮芸香苷日内峰面积 RSD 为 0.18%,橙皮苷 RSD 为 0.28%,柚皮苷 RSD 为 0.20%;日间峰面积 RSD 分别为 0.39%,0.29%,0.44%,0.12%。

2.3 稳定性试验

在操作时,取同一份供试品溶液,按上述色谱条件进样,对峰面积记录,新橙皮苷峰面积 RSD 为 1.0%,柚皮芸香苷为 0.21%,橙皮苷为 0.23%,柚皮苷为 0.40%。

2.4 回收率试验

对同一已知含量的枳壳饮片精确抽取,约 1.0 g,于 4 个圆底烧瓶中分别放置,分别加入各对照品原溶液,制备,记录峰面积,结果,新橙皮苷平均回收率为 97.2%,柚皮芸香苷为 96.6%,柚皮苷为 96.1%,橙皮苷为 96.1%。

2.5 样品含量测定

市售大部分枳壳生品和麸炒枳壳饮片以新橙皮苷和柚皮苷为主,样品均有柚皮苷检出,但含量范围为 $0.21 \sim 59.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间,经观察相差 200 多倍。通过检测新橙皮苷含量,结果示可达 $32.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,但 1 份枳壳生品和 7 份麸炒枳壳未检测到。另外,橙皮苷和柚皮芸香苷也存在较大差异,分别为 $0.00 \sim 27.82 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.00 \sim 9.42 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,

相差约 10 倍。但市售生品和麸炒品 4 种黄酮总量无差异。

3 讨论

将含新橙皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、柚皮苷对照品混合溶液分离,应用 DND 检测器在 $200 \sim 400 \text{ nm}$ 扫描,并对光谱吸收,4 种成分最大吸收段均在 283 nm 处,故对其波长进行测定^[3]。

实验对比不同提取方式的效果,得出水溶液回流和 95% 乙醇回流提取方式具较高安全性。但中药饮片应用时,以水煎液为主,故应用水溶液进行回流提取^[4,5]。从枳壳生品和麸炒枳壳 4 种黄酮含量测定结果分析,不管是总量还是单一成分,市售枳壳商品在质量上有较大差异,可能与生药饮片的炮制、贮藏、采收加工相关,故需加强饮片的加工和生产规范化技术研究,以保障用药质量的可控、稳定、优质。4 种黄酮含量在枳壳不同样品中有较大差异,不少样品中可对 4 种成分同时检测,故用单一成分作指标性成分对质量进行评价结果并不全面^[6]。

采用高效液相色谱法对枳壳饮片中 4 种黄酮类化合物含量进行测量,具简便、重复性好、准确、快速等优点,有较高应用价值。

〔参考文献〕

- [1] 章斌,金剑,金芝贵,等.枳壳的药理作用与临床应用进展[J].医药导报,2013,32(11):1462-1464.
- [2] Yen JH, Weng CY, Li S, et al. Citrus flavonoid 5-demethylnobiletin suppresses scavenger receptor expression in THP-1 cells and alters lipid homeostasis in HepG2 liver cells [J]. Mol Nutr Food Res, 2011, 55(5): 733-748.
- [3] Zhao KJ, Zhang YZ, Dong TX, et al. Analysis of HPLC fingerprints of Fructus Aurantii from different habitats and contents of naringin, neohesperidin and synephrine [J]. Chin Pharm J, 2011, 46(12): 955-959.
- [4] 周玉付,沈媛媛,周志钦,等.柑橘类柠檬苦素抗癌活性研究进展[J].中国细胞生物学学报,2011,33(5):548-553.
- [5] 张丽霞,高文远,王海洋.微生物技术在中药炮制中的应用[J].中国中药杂志,2012,37(24):3695-3700.
- [6] 马超一,高文远,高颖,等.枳壳化学成分和代谢成分的 UPLC-PAD-TOF-MS 分析 [J]. 药理评价研究, 2010, 33(2): 110-115.