

# HPLC 测定陈皮-枳壳药对提取物中柚皮苷、 橙皮苷和新橙皮苷的含量

郭琦丽<sup>1\*</sup>, 吕武清<sup>2</sup>, 曾莉萍<sup>1</sup>, 李才堂<sup>2</sup>

(1. 江西护理职业技术学院, 南昌 330029; 2. 江西省中医药研究院, 南昌 330046)

**[摘要]** 目的: 建立陈皮-枳壳药对提取物中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量测定方法。方法: 采用 HPLC, Agilent Hypersil C<sub>18</sub> (4.0 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 磷酸 (24:76) 为流动相, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 283 nm, 柱温 40 °C。结果: 柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷分别在 6.05 ~ 60.5, 4.34 ~ 43.4, 7.14 ~ 71.40 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好 ( $r$  均 > 0.999 5); 加样回收率分别为 98.65%, 98.66%, 100.78%, 其 RSD 分别为 2.01%, 1.52%, 2.11%; 重复性 RSD 分别为 2.41%, 1.56%, 2.52% ( $n=6$ )。结论: 该方法简便可行, 重复性好, 结果准确可靠, 可用于陈皮-枳壳药对提取物中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量测定。

**[关键词]** 陈皮-枳壳药对提取物; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0100-04

## HPLC Determination of Naringin, Hesperidin and Neohesperidin in Citri Reticulatae Pericarpium and Aurantii Fructus Extract

GUO Qi-li<sup>1\*</sup>, LU Wu-qing<sup>2</sup>, ZENG Li-ping<sup>1</sup>, LI Cai-tang<sup>2</sup>

(1. Jiangxi Care Vocational and Technical College, Nanchang 330029, China;

2. Jiangxi Institution of Traditional Chinese Medical and Pharmaceutical Science, Nanchang 330046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a method to determine naringin, hesperidin and neohesperidin in Citri Reticulatae Pericarpium and Aurantii Fructus. **Method:** HPLC was used to determine directly naringin, hesperidin and neohesperidin of Citri Reticulatae Pericarpium and Aurantii Fructus. Phenomsil C<sub>18</sub> (4.0 mm × 250 mm, 5 μm) as the chromatographic column, and acetonitrile-10% aqueous phosphoric acid (24:76) as the mobile phase, the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the column temperature was at 40 °C. **Result:** The linearity of verbascoside was good in the range of 6.05-60.5, 4.34-43.4 and 7.14-71.40 mg·L<sup>-1</sup> ( $r > 0.999 5$ ). The recovery of the added sample was 98.65%, 98.66% and 100.78% with RSD of 2.01%, 1.52% and 2.11%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and can be used for the determination of naringin, hesperidin and neohesperidin in Tangerine peel and Aurantii Fructus extract.

**[Key words]** Citri Reticulatae Pericarpium and Aurantii Fructus extract; naringin; hesperidin; neohesperidin; HPLC

药对即两味药的配对应用, 介于中药与方剂之间, 是中药配伍中最小的固定单位, 是历代医家遣方用药的重要形式。陈皮、枳壳均属作用温和的行气药, 皆具辛苦之性, 有行气宽中, 燥湿化痰之功, 二药配对, 一定程度上克服温燥伤阴之弊端, 共奏行气祛

痰之功, 为临床行气药中的常用药对<sup>[1-2]</sup>。

《普济方》卷二十一脾脏门中有诸多关于陈皮与枳壳配伍的记载, 木香启中汤含枳壳、陈皮各等分, 用于补脾胃、进饮食, 宽膈顺气; 木香槟榔丸含陈皮、枳壳 (麸炒) 各一两, 治食伤太阴; 秘传降气汤含

枳壳(汤浸去瓢麸炒),陈皮(炒)各一两,治饮食过度致伤脾胃,酒色无节,耗散肾阴;半夏丸含陈皮(去白)、枳壳(麸炒)各半两,治肾脏虚损壅塞,唾液不休,心胸痞闷;槐角散含陈皮、枳壳各一两,治肠胃不调,腹胀满下血等<sup>[3]</sup>。因其配伍比例大多为1:1,故作者测定陈皮-枳壳药对提取物含量时,陈皮-枳壳药对提取物按1:1配比自制。

《中国药典》陈皮项下测定了橙皮苷的含量,枳壳项下测定了柚皮苷的含量<sup>[4-5]</sup>。有文献资料显示,陈皮中的主要成分为橙皮苷<sup>[6]</sup>,枳壳中主要成分为柚皮苷和新橙皮苷,还含少量橙皮苷<sup>[7]</sup>。因此,作者对陈皮-枳壳药对的含量测定增加了新橙皮苷的含量测定。目前,未见陈皮-枳壳药对提取物含量测定的报道。本实验通过优化色谱条件和样品处理方法,可快速、准确地同时测定陈皮-枳壳药对中3个主要有效成分的含量,为含陈皮-枳壳的制剂提供含量测定的方法和依据。

## 1 仪器与试药

HP-1100型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司,包括1322A在线脱气机、G1311A四元梯度泵、G1315B二极管阵列检测器、HP化学工作站),AG135型电子天平(梅特勒-托利多)。

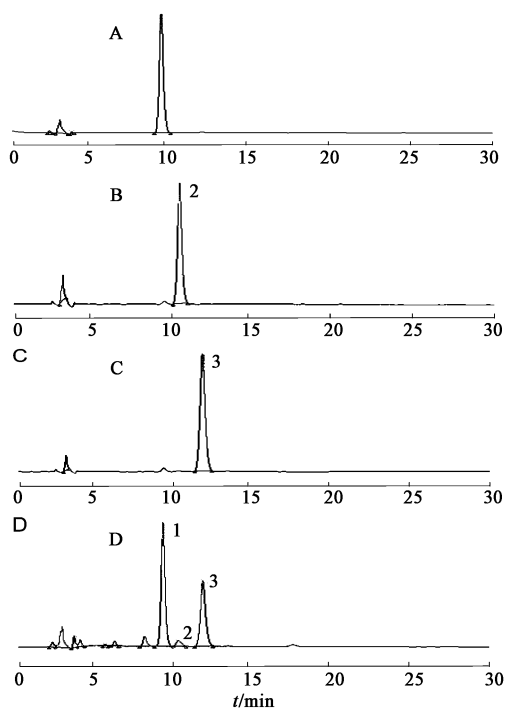
柚皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号110722-200610,供含量测定用),橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号110721-200211,供含量测定用),新橙皮苷对照品(中国药科大学提供,98.68%,供含量测定用),甲醇、乙腈(色谱纯),水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

陈皮药材来源于安徽,江西中医学院诸小兰教授鉴定为陈皮 *Citrus reticulata*;枳壳来源于江西,江西中医学院诸小兰教授鉴定为 *Citrus aurantium*。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件及系统适用性试验** 色谱柱 Agilent Hypersill C<sub>18</sub> (4.0 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1%磷酸(24:76),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 283 nm,柱温 40 °C,进样量 10 μL。在此条件下对照品、供试品色谱峰均在 15 min 内出峰,分离良好,峰形对称,色谱图见图 1。

**2.2 线性关系考察** 精密称定柚皮苷对照品 12.10 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,再精密吸取 50 mL 至 100 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,即得柚皮苷对照品溶液(质量浓度 60.5 mg·L<sup>-1</sup>)。取上述对照品溶液适量,分别稀释成 6.05, 12.10, 24.20, 36.30, 48.40 mg·L<sup>-1</sup>;精密称取



1. 柚皮苷; 2. 橙皮苷; 3. 新橙皮苷  
A. 柚皮苷对照品; B. 橙皮苷对照品;  
C. 新橙皮苷对照品; D. 陈皮-枳壳药对提取物

图 1 陈皮-枳壳药对提取物 HPLC

橙皮苷对照品 21.70 mg,置 250 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,再精密吸取 25 mL 至 50 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,即得橙皮苷对照品溶液(质量浓度 43.40 mg·L<sup>-1</sup>)。取上述对照品溶液适量,分别稀释成 4.34, 8.68, 17.36, 26.04, 34.72 mg·L<sup>-1</sup>;精密称取新橙皮苷对照品 11.90 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,再精密吸取 30 mL 至 50 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,即得新橙皮苷对照品溶液(质量浓度 71.40 mg·L<sup>-1</sup>)。取上述对照品溶液适量,分别稀释成 7.14, 14.28, 28.56, 42.84, 57.12 mg·L<sup>-1</sup>。分别吸取上述对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪中,测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品峰面积。将峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归,柚皮苷的回归方程为  $Y = 1\,947.6 + 33\,895.5X$  ( $r = 0.999\,6$ );橙皮苷的回归方程为  $Y = 9\,991.2 + 31\,270.0X$  ( $r = 0.999\,5$ );新橙皮苷的回归方程为  $Y = 21\,692 + 38\,885.8X$  ( $r = 0.999\,7$ )。结果表明柚皮苷、橙皮苷和新橙皮分别在 6.05 ~ 60.5, 4.34 ~ 43.4, 7.14 ~ 71.40 mg·L<sup>-1</sup>与峰面积呈良好线性关系。

**2.3 精密度试验** 精密吸取供试品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定供试品溶液中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮的峰面积,经统计学处理,所得峰面积 RSD 分

别为 1.14% , 1.27% , 1.18% 。表明仪器精密度良好。

**2.4 重复性试验** 精密吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$  , 重复进样 6 次, 测定供试品溶液中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的峰面积, 计算含量, 经统计学处理, RSD 分别为 2.41% , 1.56% , 2.52% 。结果表明此方法重复性良好。

**2.5 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$  , 于 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0 h 进样, 分别测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷峰面积, 经统计学处理, RSD 分别为 1.65% , 0.85% , 1.63% 。结果表明供试品溶液在室温下放置 12 h 基本稳定。

**2.6 加样回收率试验** 取陈皮-枳壳药对提取物约 25 mg, 共 6 份, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 分别精密加入配好的柚皮苷对照品溶液 (26.45  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 10 mL、橙皮苷对照品溶液 (14.60  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 10 mL、新橙皮苷对照品溶液 (38.2  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 10 mL, 混合均匀, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 称定质量, 加甲醇分别补足减失的质量, 摇匀, 滤过。吸取续滤液适量, 用微孔滤膜 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 滤过, 取滤液, 即得供试品溶液。分别精密吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$  , 分别注入液相色谱仪中。测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量, 加样回收率结果见表 1~3。

表 1 柚皮苷加样回收率试验

称样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
25.2	0.342 7	0.264 5	0.600 4	97.43	98.65	2.01
25.1	0.341 4	0.264 5	0.604 5	99.47		
25.5	0.346 6	0.264 5	0.612 2	100.42		
25.2	0.342 7	0.264 5	0.606 3	99.66		
25.4	0.345 4	0.264 5	0.609 2	99.74		
24.1	0.327 8	0.264 5	0.579 5	95.16		

**2.7 样品含量测定** 取陈皮-枳壳药对提取物约 50 mg, 精密称定, 3 份, 置 100 mL 三角烧瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 以甲醇补足减少的质量, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 滤过, 即得。提取物 I、提取物 II、提取物 III 含量测定结果见图 1 及表 4。

### 3 讨论

作者参照《中国药典》和文献资料项下的有关色谱条件, 试验过程中比较了多组流动相系统: 按中

表 2 橙皮苷加样回收率试验

称样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
25.2	0.146 2	0.146 0	0.288 7	97.60	98.66	1.52
25.1	0.145 6	0.146 0	0.291 9	100.21		
25.5	0.146 7	0.146 0	0.290 8	98.70		
25.2	0.146 2	0.146 0	0.288 3	97.33		
25.4	0.147 3	0.146 0	0.294 4	100.75		
24.1	0.139 8	0.146 0	0.282 0	97.40		

表 3 新橙皮苷加样回收率试验

称样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
25.2	0.289 8	0.382 0	0.662 8	97.64	100.78	2.11
25.1	0.288 7	0.382 0	0.673 4	100.71		
25.5	0.291 0	0.382 0	0.680 9	102.07		
25.2	0.289 8	0.382 0	0.682 1	102.70		
25.4	0.292 1	0.382 0	0.684 4	102.70		
24.1	0.277 2	0.382 0	0.654 8	98.85		

表 4 柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量测定 %

样品	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷
提取物 I	1.39	0.60	1.17
提取物 II	1.46	0.62	1.24
提取物 III	1.36	0.58	1.15

国药典午时茶颗粒测定枳壳和陈皮中橙皮苷含量的色谱条件, 以甲醇-水为流动相, 橙皮苷、新橙皮苷、柚皮苷可达到基线分离, 但该流动相系统约 30 min 完全出峰。文献报道 HPLC 测定橙皮苷大都采用乙腈-酸水为流动相<sup>[8-10]</sup>, 作者以乙腈-0.1% 磷酸为流动相, 调整流动相比例为 24:76 时, 分离度好, 出峰时间短, 峰面积较适宜。

在春、夏、秋季测定时, 柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷 15 min 内完全出峰, 且三者达到基线分离。在冬季测定时, 调节出峰时间到 30 min, 三者仍难分离。《中国药典》四正丸测定陈皮和枳壳中橙皮苷时设定柱温为 40  $^{\circ}\text{C}$ 。据文献报道<sup>[11-12]</sup>, 柱温对分离有一定的影响。作者在冬季设定柱温为 40  $^{\circ}\text{C}$  时, 三者出峰时间缩短在 15 min 以内, 且分离度符合要求。

本测定法灵敏度高, 专属性强, 快速简便, 能准确有效地测定陈皮-枳壳药对中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量。

# HPLC 测定青萘伯喹片中萘酚喹的含量

詹利之<sup>1</sup>, 杨家庆<sup>1</sup>, 林燕芳<sup>1</sup>, 杨兆丽<sup>1</sup>, 詹爱琼<sup>2</sup>, 张美义<sup>1</sup>, 李国桥<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学青蒿研究中心, 广州 510405;

2. 广州中西医结合医院药剂科中心药房, 广州 510800)

**[摘要]** 目的: 建立高效液相色谱法测定青萘伯喹片中萘酚喹含量。方法: 采用 Diamonsil ODS C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 乙腈-0.25% 二乙胺溶液 (磷酸调节 pH 至 2.5) (23: 77) 为流动相, 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 342 nm, 柱温 25 °C。结果: 萘酚喹在 0.16 ~ 0.8 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好的线性关系 ( $r = 0.999\ 976$ ,  $n = 5$ ), 平均加样回收率为 99.56%, RSD 0.32% ( $n = 9$ )。结论: 该法操作简便、准确, 适用于复方制剂青萘伯喹片中萘酚喹的含量测定。

**[关键词]** 含量测定; 高效液相色谱法; 青萘伯喹片; 萘酚喹

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0103-03

## Determination of Naphthoquinone in Artemisinin Naphthoquinone Primaquine Tablets by HPLC

ZHAN Li-zhi<sup>1</sup>, YANG Jia-qing<sup>1</sup>, LIN Yan-fang<sup>1</sup>, YANG Zhao-li<sup>1</sup>,

ZHAN Ai-qiong<sup>2</sup>, ZHANG Mei-yi<sup>1</sup>, LI Guo-qiao<sup>1</sup>

(1. Research Center for Artemisia Annual L., Guangzhou University of Chinese Medicine,

Guangzhou 510405, China; 2. Central pharmacy of Pharmacy Department, Guangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Guangzhou 510800, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC method for the determination of naphthoquinone in antimalaria drug Artemisinin Naphthoquinone Primaquine Tablets. **Method:** The assay was performed by a Diamonsil ODS C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and a mobile phase of acetonitrile-0.25% diethylamine with ratio of 23: 77 (pH 2.5, adjusted with phosphoric acid), and the flow rate was 0.8 mL·min<sup>-1</sup>. The wavelength of detector was

**[收稿日期]** 20120326(011)

**[第一作者]** 詹利之, 主管药师, 从事药物制剂与新药开发研究, Tel: 020-36585428, E-mail: zhanwenzhi@hotmail.com

### [参考文献]

- [1] 谭同来, 刘庆林. 常用中药配伍与禁忌 [M]. 太原: 山西科学技术出版社, 2006.
- [2] 周德生. 常用中药配伍与名方精要 [M]. 太原: 山西科学技术出版社, 2006.
- [3] 明·朱棣. 普济方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1959.
- [4] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 171, 229.
- [5] 赵小艳, 吕武清. 陈皮的研究概况 [J]. 中国药业, 2006, 15(15): 69.
- [6] 王元清, 严建业, 师白梅, 等. 不同批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量比较及质量评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 146.
- [7] 胡志军, 陈建秋. HPLC 测定不同基原陈皮药材中橙

皮苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 95.

- [8] 魏惠珍, 谢菲, 饶毅, 等. 内标多控法测定枳实、枳壳、青皮和陈皮中黄酮类成分含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 75.
- [9] 张金莲, 何敏, 谢一辉, 等. 高效液相色谱法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 68.
- [10] 杨武亮, 李越峰, 任燕冬, 等. 枳壳中黄酮提取方法的比较 [J]. 江西中医学院学报, 2005, 17(2): 35.
- [11] 蔡萍, 张水寒, 肖娟, 等. HPLC 测定湖南道地药材陈皮中橙皮苷的研究 [J]. 中医药导报, 2006, 13(4): 65.

[责任编辑 顾雪竹]