

HPLC 测定不同基原陈皮药材中橙皮苷含量

胡志军, 陈建秋*

(中国药科大学分析化学教研室, 南京 210009)

[摘要] **目的:**采用高效液相色谱法测定不同基原陈皮药材中橙皮苷含量,为科学评价及有效控制其质量提供可靠方法。**方法:**采用高效液相色谱法, Baseline C₁₈ 色谱柱 (4.60 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (1% 乙酸溶液) (50:50), 检测波长 283 nm, 等度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温室温, 进样量 20 μL。**结果:**橙皮苷质量浓度在 0.002 ~ 0.040 g·L⁻¹ 呈良好的线性关系 ($r=0.9999$), 平均回收率 102.3% ($n=9$), RSD 1.6%。含量测定结果表明, 同一产地不同基原陈皮药材中橙皮苷含量存在显著差异。**结论:**该方法简单、可行, 适用于不同基原陈皮药材中橙皮苷的含量测定以及质量评价。

[关键词] 陈皮; 橙皮苷; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0095-04

Content Determination of Hesperidin from Different Kinds of Pericarpium Citri Reticulatae by HPLC

HU Zhi-jun, CHEN Jian-qiu*

(Department of Analytical Chemistry China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of the hesperidin in six different kinds of pericarpium citri reticulatae and gained a method to estimate and control the quality of medical material and effectively. **Method:** The HPLC was adopted to do this examination, the separation was performed on a Baseline C₁₈ column (4.60 mm × 250 mm, 5 μm), methanol-water (1% acetic acid solution) (50:50) was used as the mobile phase with isocratic elution, the detective wavelength was at 283 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was room temperature and the injection volume was 20 μL. **Result:** The hesperidin showed a good linearity in the range of 0.002-0.040 g·L⁻¹ ($r=0.9999$), the average recovery was 102.3% ($n=9$), RSD 1.6%. The contents of hesperidin in peels of citrus was varied from different species. **Conclusion:** The method is simple and available, which can be used to determine and estimate hesperidin in different kinds of pericarpium citri reticulatae.

[Key words] Pericarpium citri reticulatae; hesperidin; HPLC; content determination

陈皮为芸香科植物橘及其栽培变种的成熟果皮,具有理气健脾、燥湿化痰的功效^[1]。橙皮苷是

陈皮中最主要活性成分之一,由于其具有维持血管正常渗透压、降低血管脆性、降低人体胆固醇含量、抗过敏、降血压、抑制癌变和抗病毒作用^[1],在医药、食品等领域具有广阔的应用前景,近年来成为国内外诸多学者研究、开发和利用的热点。

随着社会的进步和科学水平的发展,药学工作者正致力于研究探讨一个更加科学、系统、可操作性强、能真正反映中药内在质量的评价方法,那么对中药材进行质量控制的关键就是对其有效成分进行质量控制^[2]。陈皮中有效成分橙皮苷的质量控制一般分为提取^[3-5]、分离纯化^[6]以及含量测定^[7]三步

[收稿日期] 20110613(010)

[基金项目] 国家环保公益性行业科研专项(200809016);江苏省环境工程重点实验室开放基金项目(KF2007006)

[第一作者] 胡志军,硕士研究生,从事药物分析学研究, Tel: 13952049055, E-mail: hzj1985@163.com

[通讯作者] * 陈建秋,博士,教研室副主任,从事药物分析、药物环境安全与健康研究, Tel: 025-86185150, E-mail: cpucjqr@yeah.net

骤,而橙皮苷定量测定方法主要有分光光度法^[3]、薄层-紫外法^[8]和高效液相色谱法^[7]。此外研究还表明中药材质量还与其产地、品种以及季节等因素有关^[2];研究表明^[9-11],不同产地和季节陈皮中橙皮苷含量存在显著差异。为此,本研究在以高效液相色谱法为检测方法,测定不同基原陈皮中橙皮苷含量,为评价陈皮药材的质量提供实验依据。

1 材料

取同一产地新鲜蜜橘、贡柑、甜橙、芦柑、酸橙和柠檬的果皮自然晾干后粉碎过 80 目筛,置电热恒温干燥箱内 80 °C 恒重,后置于干燥器内备用。

橙皮苷对照品(批号 110721-200613) 中国药品生物制品检定所;其余试剂为分析纯或色谱纯。

BT25S 型电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;研磨机,上海灿坤实业有限公司;GZX-9070 MBE 型电热鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;HD 型恒温水浴锅,上海分析仪器厂;高效液相色谱仪(LKB2150 泵,2487 双通道紫外检测器,N2000 色谱数据工作站,手动进样),日本岛津公司;KH-250DB 型数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;SHB-III 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;索氏提取装置。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Baseline C₁₈ 色谱柱(4.60 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(1% 乙酸水溶液)(50:50),检测波长为 283 nm,等度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温室温,进样量 20 μL。橙皮苷对照品的色谱图如图 1 所示。

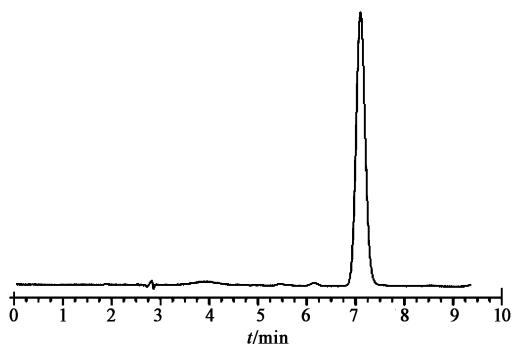


图 1 橙皮苷对照品溶液 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷室温减压干燥 12 h 的橙皮苷对照品适量,加适量甲醇超声溶解,冷却并稀释至刻度,摇匀制成 1 mL 含橙皮苷 0.5 mg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取不同基原陈皮

粗粉 1 g,加乙醚 80 mL 索式提取至提取液无色,弃去乙醚,药渣挥干,分别加甲醇 80 mL,索式提取至提取液无色(约为 5 h),0.22 μm 滤膜过滤,取滤液并用甲醇定容至 100 mL,摇匀,即得供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密移取 2.2 项下的橙皮苷对照品溶液 2.00 mL 至 10 mL 量瓶,用甲醇定容至刻度,配制成质量浓度为 0.1 g·L⁻¹ 的待测液。精密吸取上述待测溶液 0.20,0.50,1.00,2.00,4.00 mL 置于 10 mL 量瓶中,分别加超纯水至刻度,稀释成 0.002,0.005,0.010,0.020,0.040 g·L⁻¹ 的外标液,再分别吸取各稀释后对照品溶液 20 μL 进样,按 2.1 所述色谱条件进行分析,记录峰面积。以峰面积为纵坐标,橙皮苷对照品溶液浓度为横坐标绘制标准曲线,并计算得回归方程为 $A = 3.0 \times 10^7 C + 2518.7$ ($r = 0.9999$),表明橙皮苷质量浓度在 0.002 ~ 0.040 g·L⁻¹ 与峰面积 A 之间有较好的线性关系。

2.5 稳定性试验 精密称取蜜橘皮粗粉 1.0 g,按 2.3 项制备供试品溶液,同样的色谱条件下,在 0,1,2,4,8,12,24 h 各进样 2 次求平均值,测得峰面积的 RSD 1.8%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6 精密度试验 取质量浓度为 0.01 g·L⁻¹ 的橙皮苷对照品溶液,连续进样 5 次,测定其峰面积,峰面积 RSD 0.59%;精密称取蜜橘皮粗粉 1.0 g,按 2.3 项制备供试品溶液,连续进样 5 次,测定其峰面积,峰面积 RSD 0.83%,表明仪器精密度良好。

2.7 检测限(LOD)和定量限(LOQ) 取质量浓度为 0.002 g·L⁻¹ 的对照品溶液,采用逐步稀释法,按 2.1 色谱条件依法测定。结果橙皮苷检测限为 80 ng·mL⁻¹ (S/N = 3),定量限为 250 ng·mL⁻¹ (S/N = 10)。

2.8 重复性试验 精密称取同一产地蜜橘皮粗粉 5 份,按 2.3 项制备供试品溶液,按 2.1 色谱条件进行分析,结果橙皮苷的平均含量为 6.89%,RSD 5.1%,表明重复性良好。

2.9 加样回收试验 分别精密吸取 0.60,0.60,0.60,0.80,0.80,0.80,1.00,1.00,1.00 mL 橙皮苷对照品溶液(0.1 g·L⁻¹),于 10 mL 量瓶中,挥干,取 9 份已知含量的供试品溶液加入量瓶中溶解并稀释至刻度,分别注入液相色谱仪,按 2.1 色谱条件测定橙皮苷峰面积,计算回收率,得平均回收率为 102.3%,RSD 1.6%,结果见表 1。

2.10 样品测定 取 6 种不同基原陈皮样品按 2.3 项制备供试品溶液,精密吸取 20 μL 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录色谱峰面积,根

表 1 陈皮中橙皮苷加样回收率试验

No.	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.086 2	0.060 0	0.145 0	97.97		
2	0.086 2	0.060 0	0.147 9	102.8		
3	0.086 2	0.060 0	0.147 1	101.6		
4	0.086 2	0.080 0	0.168 4	102.8		
5	0.086 2	0.080 0	0.168 8	103.2	102.3	1.6
6	0.086 2	0.080 0	0.168 4	102.7		
7	0.086 2	1.000 0	0.189 4	103.2		
8	0.086 2	1.000 0	0.189 2	103.0		
9	0.086 2	1.000 0	0.189 2	103.0		

据标准曲线计算橙皮苷在药材中的含量,结果表 2,图 2。

表 2 不同基原陈皮中橙皮苷的含量($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

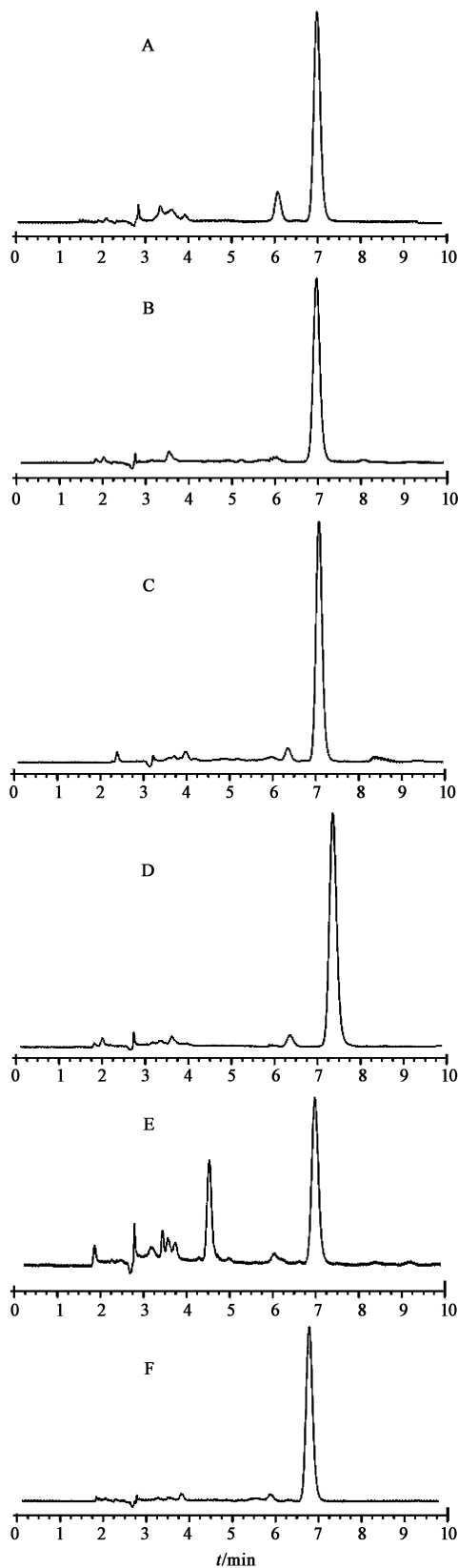
No.	陈皮基原	橙皮苷
1	甜橙皮	5.58 ± 0.56
2	贡桔皮	4.38 ± 0.03
3	密橘皮	6.89 ± 0.35
4	芦柑皮	7.57 ± 0.06
5	柠檬皮	2.16 ± 0.02
6	酸橙皮	4.10 ± 0.02

3 分析与讨论

本实验在《中国药典》(2010 年版)陈皮项下提取方法基础上进行了适当的改进,即首先将样品用乙醚索氏提取至提取液无色,脱脂后再用甲醇提取索氏提取方法。

本实验将《中国药典》中的流动相中乙酸浓度调小至 1%,同时适当增加有机相甲醇的比例,结果样品的主成分峰保留时间为 7~8 min,较流动相中乙酸用量为 4%时($t = 20 \sim 30 \text{ min}$)提前,且主成分峰与杂质峰的分度均在 2.0 以上不影响橙皮苷的定量。

6 种不同基原陈皮中橙皮苷含量测定结果显示,芦柑皮中橙皮苷含量最高,为(7.57 ± 0.06)%;柠檬皮中橙皮苷含量最低,仅为(2.16 ± 0.02)%。表明在不同基原陈皮中橙皮苷含量存在差异,采用高效液相色谱法来控制其质量具有较强的专属性,能较好控制产品的质量。



A. 甜橙皮; B. 贡桔皮; C. 蜜桔皮; D. 芦柑皮; E. 柠檬皮; F. 酸橙皮
图 2 不同基原陈皮提取液 HPLC

汉麻果胶化学成分研究 I

陈本超^{1,2}, 蔡光明^{2*}, 袁野^{1,3}, 李婷婷^{1,3}, 何群², 何锦凤⁴

- (1. 解放军第302医院中药研究所, 北京 100039;
2. 湖南中医药大学, 长沙 410007; 3. 首都师范大学化学系, 北京 100048;
4. 总后勤部军需装备研究所军用汉麻材料研究中心, 北京 100082)

[摘要] 目的: 研究汉麻果胶中的化学成分。方法: 应用70%~80%乙醇提取, D101大孔吸附树脂纯化富集, 硅胶柱色谱、薄层制备, 应用光谱与电磁波谱等方法鉴定其结构。结果: 从汉麻果胶50%~70%乙醇洗脱物初步得到7个化合物, 分别是 nemerosin(1)、香草醛(2)、滨蒿内酯(3)、芦丁(4)、伞形花内酯(5)、β-胡萝卜苷(6)、β-谷甾醇(7)。结论: 化合物1~5为首次从该植物部位中分离得到。

[关键词] 汉麻果胶; nemerosin; 香草醛; 滨蒿内酯; 芦丁; 伞形花内酯

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0098-03

Chemical Constituents in Hemp Pectin I

CHEN Ben-chao^{1,2}, CAI Guang-ming^{2*}, YUAN Ye^{1,3}, LI Ting-ting^{1,3}, HE Qun², HE Jin-feng⁴

- (1. Institute of Chinese Medicine, 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China;
2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
3. Capital Normal University, Beijing 100048, China; 4. Research Center of China-Hemp Materials of Quartermaster Research Institute of General Logistic Department, Beijing 100082, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical constituents in hemp pectin. **Method:** The constituents were extracted by 70%-80% ethanol and purified by the macroporous resin, Silica gel column chromatography, TLC. Spectroscopic methods were used to identify their structures. **Result:** Seven compounds

[收稿日期] 20111224(002)

[第一作者] 陈本超, 硕士, E-mail: oillen@sina.com

[通讯作者] * 蔡光明, 研究员, 硕士生导师, 从事药物分析与药物开发研究, Tel: 010-66933323, E-mail: cgm1004@vip.sina.com

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:176.
[2] 文窑先. 中药材及其饮片质量控制的研究[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9):925.
[3] 陈建秋, 胡志军, 王南溪, 等. 桔实皮中橙皮苷的提取测定及对自由基清除作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(10):2394.
[4] 盛占武, 孙志高, 黄学根, 等. 超滤法提取橙皮苷工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(2):188.
[5] 曾柏全, 周小芹, 解西玉. 纤维素酶-微波法提取脐橙皮橙皮苷工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(4):85.
[6] 胡志军, 郝利君, 王南溪, 等. D-101大孔吸附树脂分离纯化橘皮中的黄酮类物质[J]. 食品科学, 2010, 31(08):65.
[7] 孙冬梅, 毕晓黎, 胥爱丽, 等. HPLC法测定不同产地陈皮药材中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11):1.
[8] 王凤有, 田桂杰, 贺江萍. 薄层-紫外法测定保和散中橙皮甙的含量[J]. 天津药学, 2000, 12(1):57.
[9] 罗文华, 李文贵, 陈桦. HPLC法测定不同产地陈皮中橙皮苷的含量[J]. 现代测量与实验室管理, 2009, 17(5):8.
[10] 吴榛青, 叶莹, 张俊. HPLC测定不同产地陈皮橙皮苷的含量[J]. 中国现代中药, 2008, 10(8):20.
[11] 李晓君. 对加强中药材质量控制的探讨[J]. 中国职业药师, 2008(5):21.

[责任编辑 蔡仲德]