

枳壳生品、炮制品中有效成分分析

顾雪竹, 毛淑杰*, 李先端

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 对枳壳生品、炮制品中成分进行定性、定量分析。方法: 采用薄层分析鉴别枳壳生品、炮制品中橙皮苷; 高效液相色谱法测定枳壳生品、炮制品中柚皮苷含量。结果: 柚皮苷得到良好的分离, 在 0.18~1.09 μ g 线性关系良好 ($r=0.9995$), 加样回收率为 98.81%, 重复性好; 枳壳生品、炮制品中柚皮苷的含量产地不同差异很大。结论: 提供了简便、易行的枳壳薄层鉴别方法, 高效液相色谱法含量测定方法较药典方法更简便、准确、可靠。

[关键词] 枳壳; 炮制品; 薄层鉴别; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1, R283.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)09-0015-03

枳壳是芸香科植物酸橙(*Citrus aurantium* L.)及其栽培变种的干燥未成熟果实。枳壳中含有多种化学成分, 主要含柚皮苷、橙皮苷等黄酮类成分^[1]。2005年版药典中收录了枳壳中的柚皮苷的含量测定方法^[2], 但提取方法较为复杂。枳壳生品中成分含量测定报道很多, 而关于枳壳炮制品中的含量测定及鉴别方法却鲜有报道。本文对枳壳中柚皮苷含量测定方法进行了研究, 建立了一种简便易行的高效液相色谱法(HPLC)含量测定方法, 测定了不同产地的枳壳生品、炮制品中柚皮苷的含量。并提供了枳壳薄层鉴别的方法。

1 仪器、药品和试剂

1.1 仪器 惠普-1100型单泵高效液相色谱仪, 1100紫外检测器, 惠普软件管理工作站, 3650Å紫外分析仪。橙皮苷、柚皮苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(橙皮苷批号: 0721-200010, 柚皮苷批号: 722-8803); 液相所用甲醇为色谱醇, 水为重蒸高纯水, 其他试剂均为分析纯。

1.2 枳壳生品 购自安徽亳州, 产地为湖南、陕西; 购自河北安国, 产地为湖北; 购自四川及河北安国, 产地为四川; 购自江西, 产地为江西; 购自北京人卫饮片厂, 产地为江西。

1.3 枳壳饮片制备 取净枳壳放洗药机内慢速洗涤, 取出放入池内浸泡 2~3min, 捞出放筐内闷润

20h左右, 其间用抢水冲 3~4次, 然后切 2mm薄片, 干燥后筛去瓢核。

1.4 整货 购买整个枳壳, 挑去发霉等不合格药材。

1.5 去核饮片制备 取枳壳药材 1kg 用抢水洗 3遍后, 加水浸至软化达到可以切片程度, 用勺手工挖去瓢核, 切成薄片, 晾干, 备用。

1.6 带核饮片制备 取枳壳药材 1kg 用抢水洗 3遍后, 加水浸至软化达到可以切片程度, 切成薄片, 晾干, 备用。

1.7 枳壳炮制品 购自湖北, 产地为湖北的麸炒枳壳; 购自广西, 产地为广西的麸炒枳壳; 购自湖南, 产地为湖南的麸炒枳壳; 购自安徽亳州、河北安国、安徽沪谯饮片厂、江西永则饮片厂, 产地为江西的麸炒枳壳; 自制麸炒枳壳, 产地为江西。大生产麸炒枳壳, 产地为江西、湖南、陕西。

1.8 麸炒枳壳制备 将枳壳生片称重, 在底锅温加热达 180℃左右时, 将麦麸(药: 麦麸=100:10)投入锅内炒至冒烟后, 投药炒 6min左右, 出锅, 阴凉处晾晒, 放通风处阴干。

2 枳壳的薄层鉴别

2.1 对照品溶液制备 取橙皮苷对照品, 加甲醇制成饱和溶液。

2.2 供试品溶液制备 称取枳壳生品、炮制品各 0.1g, 置 50mL 锥形瓶中, 加甲醇 10mL 溶解, 超声提取 20min。过滤, 收集滤液至蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解至 1.5mL。

2.3 薄层层析 取上述对照品溶液 10 μ L, 供试品溶液 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-

[收稿日期] 2006-01-19

[通讯作者] * 毛淑杰, Tel: (010) 84036552; E-mail: maoshujie@

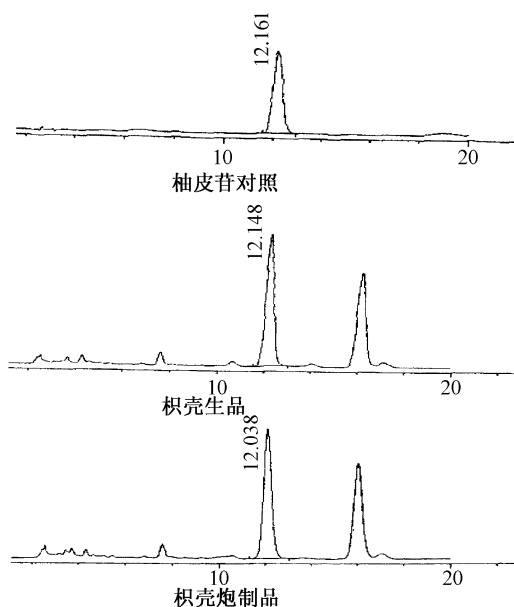
163.com

甲醇-水(9:3:3)为展开剂,展开 10cm,取出晾干,喷 $AlCl_3$ 显色。结果在紫外灯 365nm 下检视,在对应位置有相同黄绿色荧光斑点。本法鉴别枳壳中的橙皮苷,分离效果较好。

3 实验方法

3.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C_{18} (5 μ m, 4.6 × 250mm 北京分析仪器厂填充);流动相为甲醇-水-冰醋酸(32:61:3);检测波长 283nm;流速为 1.0mL/min;柱温 35℃;理论板数按柚皮苷峰计算应不低于 3000。

此条件下柚皮苷、枳壳生品、炮制品色谱图如下。



3.2 对照品溶液的制备 精密称定柚皮苷对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含 0.1mg 的溶液。

3.3 供试品溶液的制备 称取枳壳粉末(过 60 目筛)40mg,精密称定,置 50mL 锥形瓶中,加 50% 甲醇 25mL,超声处理 20min,放冷,过滤。取续滤液 3.5mL 至 10mL 容量瓶中,50% 甲醇定容,微膜过滤(0.45 μ m),备用。

3.4 线性关系考察 精密吸取柚皮苷对照品甲醇溶液(0.0912mg/mL) 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,以柚皮苷进样量(μ g)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为 $Y=172.80X-33.95$, $r=0.9995$ 。结果表明,柚皮苷在 0.18~ 1.09 μ g 范围内有良好的线性关系。

3.5 精密度试验 取供试品溶液,重复进样 5 次,测得柚皮苷峰面积 RSD 为 1.19%。

3.6 稳定性试验 精密称取供试品,按“供试品溶液制备”项下操作,分别于制备后 0, 3, 6, 9, 12, 24h,测定

柚皮苷含量,结果表明,柚皮苷在 24h 内基本稳定。

3.7 重复性试验 称取供试品 5 份,精密称定,按“供试品溶液制备”项下操作,测定,结果得柚皮苷含量为 5.00%, RSD 为 2.2%。

3.8 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量的样品 5 份,分别精密加入柚皮苷对照品 50% 甲醇溶液(0.513mg/mL) 2mL,按“供试品溶液制备”项下操作,测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 柚皮苷回收率测定结果

| 编号 | 样品称样量 (mg) | 样品中含量 (mg) | 加入量 (mg) | 测出总量 (mg) | 检出量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----|------------|------------|----------|-----------|----------|---------|-----------|-----------|
| 1 | 20.96 | 1.0459 | 1.0260 | 2.0711 | 1.0451 | 99.92 | | |
| 2 | 20.98 | 1.0470 | 1.0260 | 2.0561 | 1.0301 | 98.35 | | |
| 3 | 20.36 | 1.0160 | 1.0260 | 2.0375 | 1.0115 | 99.56 | 98.81 | 1.15 |
| 4 | 20.63 | 1.0294 | 1.0260 | 2.0468 | 1.0208 | 99.16 | | |
| 5 | 20.38 | 1.0170 | 1.0260 | 2.0129 | 0.9869 | 97.07 | | |

3.9 样品含量测定 按供试品溶液的制备方法,测定收集的枳壳生品、炮制品柚皮苷含量,结果见下表 2。

表 2 枳壳生品、炮制品柚皮苷含量测定结果

| 饮片名称 | 产地 | 来源 | 规格 | 柚皮苷含量 (%) |
|------|----|---------|--------|-----------|
| 生品 | 湖南 | 安徽亳州 | 饮片(带核) | 7.54 |
| | 湖南 | 安徽亳州 | 饮片 | 6.62 |
| | 湖南 | 安徽亳州 | 整货 | 6.17 |
| | 湖北 | 河北安国 | 饮片 | 8.20 |
| | 江西 | 人卫饮片厂 | 饮片 | 4.35 |
| | 江西 | 江西 | 整货 | 5.07 |
| | 江西 | 江西 | 饮片(带核) | 5.02 |
| | 江西 | 江西 | 饮片(去核) | 5.55 |
| | 江西 | 江西 | 饮片 | 8.46 |
| | 四川 | 四川 | 整货 | 5.42 |
| | 四川 | 四川 | 饮片 | 6.49 |
| | 四川 | 河北安国 | 饮片 | 5.63 |
| | 陕西 | 安徽亳州 | 整货 | 5.30 |
| | 陕西 | 安徽亳州 | 饮片 | 6.19 |
| 麸炒饮片 | 湖北 | 湖北 | 市售 | 5.01 |
| | 广西 | 广西 | 市售 | 4.81 |
| | 江西 | 江西 | 市售 | 5.32 |
| | 江西 | 江西永则饮片厂 | 市售 | 6.87 |
| | 江西 | 安徽沪谯饮片厂 | 市售 | 7.27 |
| | 湖南 | 湖南 | 市售 | 6.68 |
| | 江西 | — | 自制 | 5.33 |
| | 江西 | — | 自制 | 5.02 |

4 讨论

柚皮苷是枳壳中主要成分,实验优选出用甲醇-水-冰醋酸(32:61:3)作为流动相,结果柚皮苷分离较好,能达到基线分离,故采用此流动相。分别用纯甲醇、50%甲醇和乙醇对枳壳中柚皮苷提出含量进行比较,得到50%甲醇作为溶媒提取含量最高。考察了冷浸过夜、超声提取和回流提取3种不同提取方式,结果表明超声提取方法得到的柚皮苷含量最高。对超声时间进行比较,分别超声提取10,20,30min,得到超声提取20min为最佳提取时间。以上处理方法较药典方法也更为简单、易行。提供了一种较好的高效液相测定方法。

通过测定枳壳生品及炮制品中柚皮苷含量,发现不同产地枳壳柚皮苷含量相差很远,炮制品中柚

皮苷含量也有区别。通过测定同批枳壳整货及饮片 中柚皮苷含量,可计算切制过程的损耗量,发现瓢核 中柚皮苷含量低。

目前药典还没有枳壳薄层鉴别方法,本实验选择橙皮苷为对照品进行了薄层鉴别,经试验证明,橙皮苷鉴别分离较好,荧光斑点较明显,提供了一种枳壳薄层鉴别的方法。

[参考文献]

- [1] 苗明三,李振国.现代实用中药质量控制技术[M].北京:人民卫生出版社,2002.701.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部,北京:化学工业出版社,2005.199.