

高效液相法测定枳实中黄酮类成分

曾祖平^{1*}, 何 薇¹, 崔立山²

(1. 北京市中医研究所, 北京 100010; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的: 建立枳实中黄酮类成分的含量测定方法。方法: 以 HPLC 法测定枳实中橙皮苷和柚皮苷的含量。结果: 测定六批枳实药材, 橙皮苷含量为 0.96~ 3.87%, 柚皮苷含量为 6.90~ 9.10%, 回收率分别为 99.3%, 100.0%。结论: 方法简便易行, 在同一色谱条件下可同时分离橙皮苷和柚皮苷。

[关键词] 枳实; 橙皮苷; 柚皮苷; 高效液相

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)07-0009-02

枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种或甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck 的干燥幼果。中医理论认为枳实具有破气消积、化痰散痞之功

效^[1], 是理气健脾、化痰止咳处方中的常用中药。橙皮苷和柚皮苷为枳实中主要的黄酮类成分。前期已采用紫外分光光度法测定了枳实中总黄酮的含量^[2], 本文报告以 HPLC 法在同一色谱条件下测定其中橙皮苷和柚皮苷的含量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国); AEL-200

[收稿日期] 2005-10-08

[通讯作者] 曾祖平, Tel: (010) 52176671; E-mail: zzp600@sohu.com

电子分析天平(湘仪天平仪器厂);ME2.1 型超声波清洗器(METTLER ELECTRONICS Corp.)。

枳实(北京鹤延龄中药饮片有限公司,北京卫仁中药饮片厂);橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,721-8601);柚皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,722-9004);甲醇(色谱纯),重蒸馏水(北京中医医院制剂室),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 × 150mm, 5μm);流动相为甲醇-6% 醋酸水溶液(28:72);流速为 1.0mL·min⁻¹;检测波长 285nm;柱温为室温。

2.2 标准曲线制备 精密称取柚皮苷对照品 15.9mg 于 50mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,作为对照品溶液 I。精密称取橙皮苷对照品 11.1mg 于 50mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,作为对照品溶液 II。分别精密吸取对照品溶液 I 和 II 各 0.5, 1, 2, 3, 4, 5mL 于 10mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,按上述色谱条件进样 5μL,测定峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标,进样量(X)为横坐标,得柚皮苷回归方程 $Y = 1.732 \times 10^3 X + 1.7$, $r = 0.9998$, 线性范围在 0.0795~ 0.795μg 之间;橙皮苷回归方程 $Y = 1.710 \times 10^3 X - 4.7$, $r = 0.9999$, 线性范围在 0.0555~ 0.555μg 之间。

2.3 精密度试验和稳定性试验 同一浓度的供试品溶液分别进样 5μL,连续重复 5 次,测定峰面积,其 RSD 分别为橙皮苷 1.05% 和柚皮苷 0.91%;每隔 2h 进样 1 次,结果样品在 8h 内稳定, RSD 分别为橙皮苷 1.31% 和柚皮苷 1.13%。

2.4 重复性试验 分别取同一批号药材 6 份,精密称定,照样品测定方法测定柚皮苷及橙皮苷含量,结果 RSD 为 2.89%,表明重复性良好。

2.5 样品测定 取枳实粉末(60 目)约 40mg,精密称定,置于 25mL 容量瓶中,加甲醇近刻度,超声处理 30min,定容,摇匀,滤过。取续滤液及不同浓度的对照品溶液,依次进样 5μL,测定峰面积,采用外标两点法计算柚皮苷和橙皮苷的含量,测定 6 批枳实药材,结果见表 1。

2.6 回收率测定 精密称取已知含量的枳实粉末 6 份,置于 25mL 容量瓶中,再加入一定量已知浓度的橙皮苷和柚皮苷对照品溶液,按样品测定方法操作,计算回收率,结果见表 2。

表 1 枳实含量测定结果(n=3,%)

样品编号	柚皮苷	橙皮苷
1	8.87	3.47
2	9.10	0.96
3	7.44	2.12
4	7.58	3.87
5	6.90	2.12
6	7.58	1.20

表 2 回收率测定结果

项目	编号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
柚皮苷	1	1.180	1.113	2.302	100.9		
	2	1.118	1.113	2.202	97.4		
	3	1.171	1.113	2.293	100.8		
	4	1.206	1.113	2.298	98.0	99.3	1.8
	5	1.171	1.113	2.297	101.1		
	6	1.189	1.113	2.283	97.5		
橙皮苷	1	0.462	0.444	0.922	103.7		
	2	0.437	0.444	0.865	96.4		
	3	0.458	0.444	0.915	102.9		
	4	0.472	0.444	0.911	98.9	100.0	3.1
	5	0.458	0.444	0.888	96.9		
	6	0.465	0.444	0.917	101.0		

3 讨论

在 230~ 340nm 波长范围内对橙皮苷和柚皮苷对照品溶液、样品溶液进行扫描,最大吸收波长在 284.5~ 284.9nm 之间,且峰形一致,确定测定波长为 285nm。

样品提取时比较了石油醚脱脂对黄酮类成分的影响,结果表明脱脂前后 UV 图谱和 HPLC 图谱完全一致,故确定不脱脂,直接甲醇提取。根据前期实验结果^[2],确定样品提取条件为加入甲醇 25mL,超声提取 30min。

枳实中含有多种黄酮苷,本文在同一色谱条件下测定橙皮苷和柚皮苷,分离效果良好,方法简便易行,较全面地反映了药材质量。

[参考文献]

- [1] 雷载权. 中药学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 160.
[2] 崔立山, 曾祖平. 紫外分光光度法测定枳实中总黄酮的含量[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(增): 91.