

枳壳及其制剂血府逐瘀胶囊中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定

周燕, 薛磊冰, 金佩芬(嘉兴市食品药品检验检测院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要: 目的 建立 HPLC 同时测定枳壳和血府逐瘀胶囊中柚皮苷和新橙皮苷的含量。方法 色谱柱为 SunFire™ C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(20:80), 磷酸调 pH 至 2.5; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 283 nm。结果 柚皮苷在 0.166~2.074 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均加样回收率为 98.17%; 新橙皮苷在 0.162~2.020 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 5$), 平均加样回收率为 100.61%。结论 本方法简便、准确, 重复性好, 可用于枳壳及其制剂血府逐瘀胶囊中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定。

关键词: 枳壳; 血府逐瘀胶囊; 柚皮苷; 新橙皮苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)06-0778-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.06.024

Determination of Naringin and Neohesperidin in Aurantii Fructus and its Preparation Xuefu Zhuyu Capsules

ZHOU Yan, XUE Leibing, JIN Peifen(Jiaxing Drug and Food Vocational College, Jiexiang 314001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of naringin and neohesperidin in Aurantii Fructus and its preparation Xuefu Zhuyu Capsules. **METHODS** The column was SunFire™ C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile-water(20:80) adjusted to pH 2.5 with phosphoric acid. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was at 283 nm. **RESULTS** The calibration curves were linear within the range of 0.166–2.074 μg ($r=0.999\ 8$) for naringin, 0.162–2.020 μg($r=0.999\ 5$) for neohesperidin, respectively. The average recovery of them were 98.17% and 100.61%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, practicable, accurate and rapid. It can be applied to content determination of naringin and neohesperidin in Aurantii Fructus and Xuefu Zhuyu Capsules.

KEY WORDS: Aurantii Fructus; Xuefu Zhuyu Capsules; naringin; neohesperidin; HPLC

枳壳(Aurantii Fructus)是中国药典 2015 年版收录的中药, 药用来源为芸香科植物酸橙(*Citrus aurantium* L.)及其栽培变种的干燥未成熟果实, 具有理气宽中, 行滞消胀的功效^[1]。其栽培变种主要有黄皮酸橙、代代花、朱栾、塘橙^[2]。由于基源植物来源较多, 民间枳壳的使用有混用现象^[3]。常见混伪品有橘、胡柚、甜橙、柚子等近成熟果实。

血府逐瘀胶囊是由柴胡、当归、地黄、赤芍、红花、炒桃仁、麸炒枳壳等 11 味药制成的复方制剂, 具有活血祛瘀、行气止痛的功效。该制剂属于国家基本药物, 已有多年临床应用, 疗效显著。现行标准收载于中国药典 2015 年版一部, 含量测定项下采用 HPLC 测定芍药苷的含量, 未建立枳壳有效成分的含量测定方法。虽然文献中有报道对血府逐瘀汤中有效成分进行测定^[4], 但未有文献报道将枳壳及其制剂做同步研究。

为了提高血府逐瘀胶囊的质量控制标准, 特

别是判定其枳壳投料的正确性, 参考有关文献^[5-6], 建立了 HPLC 测定枳壳及血府逐瘀胶囊中柚皮苷和新橙皮苷含量的方法。

1 仪器与试剂

Waters 2695-2487 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。水为超纯水, 乙腈为色谱纯, 其余均为分析纯。柚皮苷对照品(批号: 110722-201312, 供含量测定用, 含量以 94.7%计)、新橙皮苷对照品(批号: 111857-201102, 供含量测定用, 含量以 99.6%计)均购自中国食品药品检定研究院, 枳壳饮片(麸炒枳壳)正品 7 批、伪品 1 批(详见表 1); 血府逐瘀胶囊(天津宏仁堂药业有限公司, 批号: C03187, C03200, C03214)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: SunFire™ C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(20:80), 磷酸调 pH 至

作者简介: 周燕, 女, 副主任中药师 Tel: (0573)83388077

E-mail: icezhouyan@163.com

2.5; 流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长: 283 nm ; 柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$; 进样量: $10 \text{ }\mu\text{L}$ 。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷对照品 8.76 mg 和新橙皮苷对照品 8.29 mg , 分别置 20 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别制成浓度为 $414.8, 412.8 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。分别精密吸取柚皮苷对照品储备液、新橙皮苷对照品储备液 10 mL , 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 枳壳供试品溶液的制备 取粗粉约 0.2 g , 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 50 mL , 密塞, 称定重量, 加热回流 1.5 h , 放冷, 密塞, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL , 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 离心, 取上清液, 即得。

2.2.3 枳壳伪品供试品溶液的制备 同“2.2.2”

项下方法制备枳壳伪品供试品溶液。

2.2.4 血府逐瘀胶囊供试品溶液的制备 取 10 粒, 倾出内容物, 混合均匀, 精密称取 0.5 g , 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL , 称定重量, 超声处理 60 min , 放冷至室温, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 离心, 取上清液, 即得。

2.2.5 阴性对照溶液的制备 按处方比例及制备工艺, 制备缺枳壳的阴性对照样品溶液。精密称取阴性对照样品溶液 0.5 g , 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取上述溶液各 $10 \text{ }\mu\text{L}$, 注入液相色谱仪测定, 记录色谱图, 结果显示, 在此色谱条件下, 供试品溶液中柚皮苷和新橙皮苷与其他组分分离较好, 阴性对照对测定无干扰, 结果见图 1。

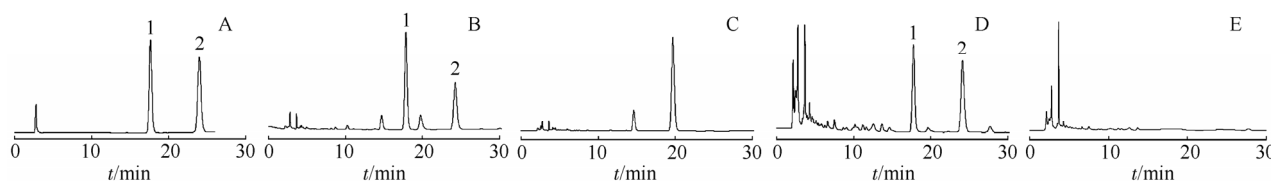


图 1 高效液相色谱图

A-对照品混合溶液; B-枳壳正品供试品溶液; C-枳壳伪品供试品溶液; D-血府逐瘀胶囊供试品溶液; E-缺枳壳阴性对照溶液; 1-柚皮苷; 2-新橙皮苷。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-standard solution; B-Aurantii Fructus genuine sample solution; C-Aurantii Fructus adulterants sample solution; D-Xuefu Zhuyu Capsules sample solution; E-negative control solution; 1-naringin; 2-neohesperidin.

2.3.2 线性关系考察 分别精密吸取柚皮苷对照品、新橙皮苷对照品, 进样 $2, 5, 10, 15, 20, 25 \text{ }\mu\text{L}$ 测定, 记录色谱图。以峰面积为纵坐标, 以进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程, 柚皮苷 $Y=2.029 \times 10^6 X + 1.736 \times 10^4 (r=0.999 8)$, 在 $0.166 \sim 2.074 \text{ }\mu\text{g}$ 内呈良好线性关系; 新橙皮苷 $Y=9.583 \times 10^6 X + 2.326 \times 10^5 (r=0.999 5)$, 在 $0.162 \sim 2.020 \text{ }\mu\text{g}$ 内呈良好线性关系。

2.3.3 精密度试验 精密吸取柚皮苷和新橙皮苷对照品溶液注入液相色谱仪, 连续进样 5 次, 柚皮苷峰面积 $\text{RSD}=1.06\%$, 新橙皮苷峰面积 $\text{RSD}=0.38\%$ 。结果表明, 方法精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 精密吸取同一批号血府逐瘀胶囊供试品溶液, 分别在 $0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 \text{ h}$ 进样, 测定样品中柚皮苷和新橙皮苷的峰面积, 结果柚皮苷 $\text{RSD}=1.13\%$, 新橙皮苷 $\text{RSD}=$

1.10% , 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 精密称取同一批号 6 份血府逐瘀胶囊样品, 按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液, 进样, 记录峰面积, 计算含量, 结果每粒胶囊柚皮苷含量为 2.376 mg , RSD 为 0.6% , 每粒胶囊新橙皮苷含量为 2.437 mg , RSD 为 0.2% , 结果表明方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取已知含量的血府逐瘀胶囊样品 6 份, 约 0.25 g , 置 25 mL 量瓶中, 精密加入柚皮苷对照品储备液 2.0 mL 、新橙皮苷对照品储备液 2.0 mL , 照“2.2.4”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 计算加样回收率。柚皮苷、新橙皮苷平均回收率分别为 $98.17\%, 100.61\%$, RSD 分别为 $0.7\%, 1.5\% (n=6)$ 。

2.4 样品含量的测定

2.4.1 枳壳成分含量区别 柚皮苷和新橙皮苷是

枳壳中的主要活性成分，枳壳和混伪品均含橙皮苷，但混伪品基本不含柚皮苷和新橙皮苷或含量较低。本实验中的伪品基本不含柚皮苷和新橙皮苷，而橙皮苷含量高。根据性状判定，该伪品果皮较薄，为橙的近成熟果实。枳壳样品真伪品含量区别见表 1。

表 1 成分含量区别表

Tab. 1 Component content difference

编号	产地	批号	含量/%	
			柚皮苷	新橙皮苷
安徽三义堂中药饮片有限公司	江西	130829	0.05	0.04
安徽新兴中药材饮片有限公司	浙江	140401	5.12	3.44
亳州市万珍中药饮片厂	江西	1305049	4.01	4.12
嘉兴东方国药饮片有限公司	湖南	140108	5.03	3.03
浙江钱江中药材饮片有限公司	浙江	140416	4.58	4.29
衢州南孔中药有限公司饮片厂	江西	1406014	4.49	3.62
安徽方氏中药饮片有限公司	湖南	140710	7.76	3.87
杭州桐君堂药业有限公司	江西	140824	5.94	4.71

2.4.2 血府逐瘀胶囊含量测定 取 3 批样品，按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液。按“2.1”项下色谱条件测定，用外标法计算样品中柚皮苷和新橙皮苷的含量，结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(n=3)

Tab. 2 Results of sample determination(n=3)

批号	柚皮苷		新橙皮苷	
	含量/mg·粒 ⁻¹	RSD/%	含量/mg·粒 ⁻¹	RSD/%
C03187	2.376	1.20	2.437	0.98
C03200	2.383	1.03	2.448	1.12
C03214	2.390	0.95	2.455	1.67

3 讨论

枳壳和混伪品均含橙皮苷，但混伪品基本不含柚皮苷和新橙皮苷，或含量较低。枳壳药材中黄酮类成分随着枳壳成熟度的增加，橙皮苷和芸香柚皮苷的含量显著下降，柚皮苷和新橙皮苷的

含量上升^[7]。黄酮类成分极性相近，薄层色谱无法分离区别，液相色谱出峰时间也很接近。为了更好的定位枳壳中所含的黄酮类成分，可增加芸香柚皮苷和橙皮苷对照品，所得色谱图中按出峰时间先后分别为芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷。

实验考察结果表明，乙腈-水(20:80)磷酸调 pH 至 2.5 为最优流动性体系。比较加热回流 90 min 和超声处理 30, 60, 90 min 的提取液，结果显示超声 60 min 可完全提取，且与回流提取 90 min 的提取效率相近。

中药复方具有组成药味多，成分复杂的特点，而其活性也常常是多种成分共同作用的结果，导致中成药质量的全面控制难度大。本研究以柚皮苷、新橙皮苷为指标对血府逐瘀胶囊进行含量测定，能有效鉴别其枳壳投料的正确性。经方法学验证，该方法操作简便，分离良好，具良好稳定性、重现性，可用于该制剂的质量控制。

REFERENCES

- [1] 王国强, 主编. 全国中草药汇编. 卷一[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 428-429.
- [2] 肖培根主编. 新编中药志[M]. 第二卷. 北京: 化学工业出版社, 2006: 443-445.
- [3] 王锦翌, 陈锡林, 顾晓蕾. 浙江枳壳资源及其药材性状评价研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(4): 603.
- [4] YIN A, HUANG S. Research on chemical constituents of Xuefu Zhuyu Decoction [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2011, 34(10): 1553-1555.
- [5] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 229-230.
- [6] GAO Y, GAO W Y, DONG X, et al. HPLC fingerprint of Xuefu Zhuyu Capsule [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2009, 31(10): 1477-1481.
- [7] WANG Q, YUAN D. Determination of flavonoids in Fructus Aurantii Immaturus and Fructus Aurantii form different habitat by HPLC [J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医药), 2008, 21(3): 1.

收稿日期: 2015-07-07

欢迎关注中国现代应用药学杂志社微信服务号



中国现代应用药学杂志社已开通微信服务号(微信号: 中国现代应用药学杂志社), 可通过搜索“中国现代应用药学杂志社”或扫码添加关注。通过微信服务号, 您可以随时查询稿件最新动态, 浏览本刊所有已发论文, 第一时间收到本刊当期目录, 了解本刊联系方式、投稿方式等。在基本的功能之外, 本刊将通过微信号推送医药、产业、政策信息, 发布编委专家的科研经验、学术成果等。