

文章编号: 1004-1656(2008) 09-1196-03

HPLC 测定香砂养胃丸中橙皮苷和柚皮苷含量

刘思曼¹, 边清泉¹, 唐 英², 张 进², 李 方^{3*}

(1. 绵阳师范学院 天然产物研究所, 四川 绵阳 621000

2. 重庆文理学院化学与环境科学系, 重庆 永川 402168

3. 四川大学化学学院, 四川 成都 610064)

关键词: HPLC; 香砂养胃丸; 橙皮苷; 柚皮苷

中图分类号: O657.7 文献标识码: A

香砂养胃丸是由木香、砂仁、陈皮、枳实等 12 味中药组成的复方制剂, 有温中和胃之功效, 主要用于不思饮食、胃脘满闷或泛吐酸水等症^[1]。陈皮、枳实是其主要成分, 具有理气健胃、燥湿化痰、下气止呕等功效^[2]。香砂养胃丸目前生产厂家较多, 因此必须对制剂的质量、检测的标准进行规范、统一、严密地控制, 这是保证制剂质量的关键。2005 年版中国药典采取厚朴酚与和厚朴酚为定量控制指标, 因此对其的测定报道较多, 但是对陈皮、枳实中的主要有效成分橙皮苷、柚皮苷没有定量检测^[1]。而橙皮苷对口腔癌具有一定的预防作用^[3], 还能治疗胸膜炎^[4]。目前对橙皮苷、柚皮苷的测定方法已有报道^[5,6]。本实验采用 HPLC 同时测定香砂养胃丸中橙皮苷、柚皮苷, 旨在对该制剂的质量控制提供一种简便、易行、结果准确的有效补充方法, 为生产企业和检验部门更加全面的检测产品质量提供实验依据, 对确保香砂养胃丸的质量控制起到参考作用。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10AT 型高效液相色谱仪 (岛津公司), DAD 检测器, CLASS-VP5.0 色谱数据处理工作站, CTD-6A 色谱柱温箱; 101-2A 型数显恒温干燥箱; AY120 电子天平 (SHIMADZU); SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器。

橙皮苷 (批号: 110721-200512)、柚皮苷 (批

号: 110722-200309) 对照品购于中国药品生物制品检定所, 为定量用对照品。香砂养胃丸由河南宛西制药股份有限公司生产 (批号: 070904, 070905, 070908, 071006, 071009), 处方中原药材购于绵阳天诚大药房, 经鉴定均符合原药材质量标准, 乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 实验用水为二次蒸馏高纯水。

1.2 色谱条件

色谱柱为 DiamonsilTM C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (磷酸调 pH = 3.5) (22:78); 流速 1.2 mL·min⁻¹; UV 检测: 283 nm; 进样量为 5 μL; 柱温 30℃; 灵敏度为 0.050 AUFS。以橙皮苷、柚皮苷峰计理论塔板数均大于 2500。

1.3 对照品溶液制备

分别精密称取经 P₂O₅ 干燥的橙皮苷、柚皮苷对照品 6.2 mg、5.8 mg 置 10 mL 量瓶, 甲醇定容至刻度, 分别精密吸取橙皮苷、柚皮苷对照品溶液 5.0 mL 和 0.5 mL 置 25 mL 容量瓶, 甲醇定容得混标对照品溶液。橙皮苷浓度为 124.0 μg·mL⁻¹, 柚皮苷浓度为 11.6 μg·mL⁻¹。

1.4 供试品溶液的制备

取香砂养胃丸样品适量, 干燥后磨碎, 精密称取 1.0 g 置 100 mL 烧瓶中, 加石油醚 (60℃ ~ 90℃) 50 mL 超声洗涤 2 次, 每次 25 min 挥尽残留石油醚后, 加甲醇 30 mL 回流提取 2 次, 每次回流提取 2 h 合并提取液并浓缩至 50 mL 以下, 冷却后定容至 50 mL, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液待测, 即得供试品溶液 (含制剂药样 20 mg·mL⁻¹)。

收稿日期: 2008-01-11; 修回日期: 2008-05-26

基金项目: 绵阳市科技局自然科学研究重点项目 (2006S016)

联系人简介: 李方 (1956-), 女, 教授, 主要研究方向微量成分分析。Email: beif@ yahoo. com. cn

同法制备不含陈皮、枳实的阴性样品溶液, 备用。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 检测波长的确定 用二极管阵列检测器在本实验溶剂体系条件下, 分析了橙皮苷、柚皮苷对照品色谱峰和 5 批号样品中目标组分相应色谱峰的紫外光谱, 结果二者相同保留值处紫外光谱基本一致, 橙皮苷在 227 nm 和 283 nm, 柚皮苷在 212 nm、226 nm 和 283 nm 有最大吸收。283 nm 处待测组分与杂质峰能够基线分离, 检测灵敏度高, 橙皮苷、柚皮苷均有强吸收, 确定检测波长为 283 nm。

2.1.2 流动相的优化 2005 年版药典测定橙皮苷流动相为甲醇-水-乙酸 (55: 61: 4), 该流动相分析时间较长, 样品前处理过于严格, 而且橙皮苷、柚皮苷分离困难。本实验在通过比较、优化的基础上确定流动相为乙腈-水 (磷酸调 pH = 3.5) (32:88), 待测组分之间及与其它组分有效分离 ($R > 1.5$), 且保留值适宜, 柱后处理简便、省时。

2.1.3 提取条件的确定 通过对比实验说明, 样品甲醇提取液中脂类含量较高, 待测组分特征峰峰形有拖尾现象, 且对柱后处理带来困难。石油醚洗涤样品提取液可除去脂类物质, 改善峰形、保护反向柱的使用寿命。

2.1.4 目标组分萃取程度的确定 目标组分提取是影响其含量测定的关键问题之一。经过对 5 批号样品萃取目标组分后的药渣 HPLC 检测, 无待测组分特征峰出现, 说明样品经甲醇回馏提取 2 次后, 橙皮苷、柚皮苷已提取完毕。

2.2 线性关系考察

精密吸取对照品溶液 2.0 μL、4.0 μL、6.0 μL、8.0 μL、10.0 μL 和 12.0 μL 分别进样, 按 1.2 项色谱条件测定峰面

积 ($n = 3$), 以对照品进样量 X (μg) 对峰面积均值 Y ($\mu\text{V} \cdot \text{s}$) 进行处理, 得到橙皮苷的线性回归方程 $Y = 8.97 \times 10^4 X - 2.04 \times 10^3$, $r = 0.9989$, 线性范围 0.25 $\mu\text{g} \sim 1.49 \mu\text{g}$; 柚皮苷直线方程 $Y = 7.48 \times 10^4 X - 1.16 \times 10^3$ ($r = 0.9995$), 线性范围: 0.023 $\mu\text{g} \sim 0.14 \mu\text{g}$ 。

2.3 精密度试验

分别以橙皮苷、柚皮苷对照品溶液进样 5 μL , 连续重复 5 次, 测定峰面积, 橙皮苷、柚皮苷峰面积积分值的 RSD 分别为 1.22% 和 0.66%。

2.4 重现性试验

称取同一批香砂养胃丸样品粉末 5 份, 各 1 g 按 1.4 项制备供试品溶液, 分别重复测定 5 次, 计算含量。结果橙皮苷含量均值分别为 1.21%、1.24%、1.20%、1.19% 和 1.23%, RSD 为 1.7% ($n = 5$), 柚皮苷含量均值分别为 0.096%、0.095%、0.097%、0.094% 和 0.098%, RSD 为 1.6% ($n = 5$), 表明方法重现性良好。

2.5 供试品溶液稳定性试验

取同批号香砂养胃丸供试品溶液分别在 0、6 h、12 h 和 24 h 进样, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内基本稳定, 橙皮苷、柚皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.3% 和 1.9%。

2.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的香砂养胃丸原粉试样约 1.0 g 共 5 份, 加入含橙皮苷 124.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、柚皮苷 11.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液, 按 1.4 项制备样品溶液, 测定并计算回收率。橙皮苷、柚皮苷平均回收率分别为 99.3% 和 102.6%; RSD 分别为 1.2% 和 2.5%。

2.7 样品测定

精密吸取 1.4 项制备的香砂养胃丸供试品溶液、空白溶液和橙皮苷、柚皮苷对照品溶液各 5 μL 进样, 按 2.1 项色谱条件重复测定 5 次, 外标法计算含量, 结果见表 1, 高效液相色谱图见图 1。

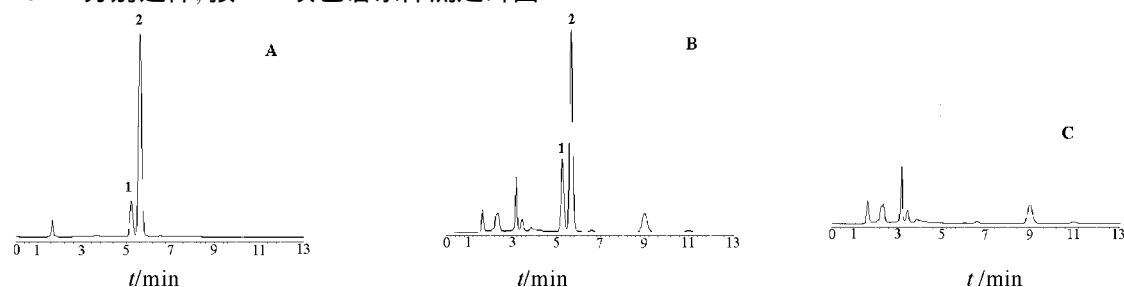


图 1 对照品和样品 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of samples

A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性样; 1. 柚皮苷; 2. 橙皮苷

表 1 香砂养胃丸中橙皮苷和柚皮苷质量分数 (n = 5)

Table 1 The Quality score ofHesperidin and naringoside in xiangsha yangwei pill

样品 批号	橙皮苷 (%)	平均值 (%)	RSD (%)	柚皮苷 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
070904	1. 23			0. 094		
070905	1. 25			0. 096		
070908	1. 17	1. 21	2. 5	0. 096	0. 096	1. 5
071006	1. 20			0. 098		
071009	1. 21			0. 097		

香砂养胃丸中橙皮苷、柚皮苷是其功效的主

参考文献:

[1]国家药典委员会 . 中华人民共和国药典 . 一部 [S] . 北京: 化学工业出版社 . 2005: 525.
[2]季宇彬 . 天然药物有效成分药理与应用 [M] . 北京: 科学出版社, 2007: 294, 364.
[3] Takuji Tanaka, Hiroki Makita, Masami Ohnishi, et al. Chemoprevention of 4-Nitroquinoline1-Oxide-induced Oral Carcinogenesis by Dietary Curcumin and Hesperidin: Comparison with the Protective Effect of β -Carotene [J] . *Cancer Research*, 1994, 54(1): 4653-4659.
[4] Emin J A, Oliveira A B, Lapa A J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids dauricin and claussequinone in rats and mice [J] . *J Pharm*

要有效成分, 对其含量的定量控制是确保制剂质量的一个重要方面, 2005年版中国药典 (一部) 未对此项作出规定, 目前文献报道也仅有香砂养胃丸中橙皮苷的检测, 而且含量在 0. 051% ~ 2. 1% 之间^[7-9]。不同厂家或批号产品主要有效成分含量相差甚远, 必然对制剂药效产生影响。因此建立针对制剂主要有效成分的质量控制补充方法, 对生产企业和检验部门更加全面的检测产品质量提供实验依据。

Pharmacol, 1994, 46(2): 118-22.
[5]唐志杰 . 高效液相色谱法测定陈皮中橙皮苷的含量 [J] . 中成药, 1994, 16(3): 43-45.
[6]苏明三, 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, 2003: 704.
[7]顾继红 . 高效液相色谱法测定香砂养胃丸中橙皮苷含量 [J] . 中国血液流变学杂志, 2003, 13(2): 199-200.
[8]方加林, 朱炳辉, 方继辉 . 高效液相色谱法测定香砂养胃丸中橙皮苷的含量 [J] . 中药新药与临床药理, 2003, 14(3): 183-185.
[9]王海英, 赵建泽 . HPLC测定香砂养胃丸中橙皮苷的含量 [J] . 中成药, 2005, 27(9): 1115-1116.

Detemination ofHesperidin and naringoside in xiangsha yangwei pill by HPLC

LU Siman¹, BIAN Qing-quan¹, TANG Ying², ZHANG Jin², LI Fang^{3*}
(1. Graduate school for studying natural product Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China
2. Department of chemistry and Environment Science Chongqing University, Chongqing 402168, China
3. College of Chemistry Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract Hesperidin and naringoside in xiangsha yangwei pill has been detemined by the HPLC, in which the DiamonsillMC₁₈ (4. 6 mm × 150 mm, 5 μ m) was used as the column atUV 283 nm and the CH₃CN-H₂O solution (22: 78) was made use of mobile phase in which H₃PO₄ was used as agent to regulate pH (3. 5), the flow rate is 1. 2 mL · min⁻¹, there was a fine separated degree between the pending component and other component and the lineal range of Hesperidin and naringoside is 0. 25 μ g ~ 1. 49 μ g and 0. 023 μ g ~ 0. 14 μ g respectively. The average recoveries of Hesperidin and Naringoside were 99. 3% and 102. 6% respectively with RSD being 1. 2% and 2. 3% . The result can give a simple effective method for controlling the quality of xiangsha yangwei pill

Key words HPLC; xiangsha yangwei pill; Hesperidin; naringoside

(责任编辑 李 瑛)