

芪总皂苷的量。

3.4 通过高效液相色谱-蒸发光散射法对不同产地黄芪中黄芪甲苷的测定,对黄芪质量进行比较,得出如下结论:不同产地黄芪中黄芪甲苷的量有一定差异。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
[2] Liu X J, Ha Z K. The Astragaloside composition and phar-

macology live research makes progress [J]. *Shanghai Med Pharm J* (上海医药), 1996 (2): 23.

- [3] Zheng Z R, Song C Q, Liu D, et al. Determination of astragaloside IV in the hairy root cultures of membranous milkvetch (*Astragalus membranaceus*) by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(2): 98-99.
[4] Yuan T Z M. Japan is in common use to living the metered method of medicine Astragaloside [J]. *World Phytomed* (国外医药:植物药分册), 1990, 5(5): 201.

高效液相色谱法测定不同产地枳壳中柚皮苷和新橙皮苷

杨武亮¹, 杨世林², 黄加龙¹, 李霞兰¹, 欧阳辉², 刘颖², 王少军²

(1. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004;

2. 中国固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

枳壳始载于《药性论》, 历代本草多有记载。经考证, 宋代以前使用的枳实(壳)为枸橘 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. 的干燥幼果及未成熟果实; 明清以后则以质量更优的酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥幼果及未成熟果实为主流作枳实及枳壳入药, 并沿用至今。枳壳具有理气宽中、行滞消胀功效。其目前已知主要成分为黄酮类化合物、挥发油和少量的生物碱等成分。《中国药典》2005 年版一部^[1]在定量测定项下采用 HPLC 测定柚皮苷的量来控制枳壳的质量。只以柚皮苷为指标来控制枳壳的质量, 不能很好地反映枳壳药材的基原植物就是酸橙, 因为柑橘属有多种植物果实含有柚皮苷而不含有新橙皮苷, 也不作为枳壳的基原植物。本研究同时以柚皮苷和新橙皮苷为对照品, 采用 HPLC 法同时控制枳壳药材中柚皮苷和新橙皮苷的量, 能反映目前枳壳主产区枳壳的来源, 可以保证药材质量的均匀和稳定。此方法简便、可靠, 能为枳壳的质量评价提供更为可靠的依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器, Agilent 1100 色谱工作站; 电子天平 (METTLER AE 240)。

1.2 试剂: 乙腈 (HPLC 级, Merck); 其他试剂均为分析纯; 水为重蒸水。新橙皮苷对照品 (自制, 经 HPLC 峰面积归一化法测定质量分数 99.34%); 柚皮苷对照品购于中国药品生物制品检定所 (供定量

测定用, 批号 0722-200108)。枳壳药材 2002 年购 (采) 于江西、湖南、四川、重庆、浙江等地。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Hypersil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相为乙腈-水 (磷酸调 pH 3) (20:80); 检测波长为 283 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C。理论塔板数按柚皮苷峰计算应不得低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取减压干燥至恒重的柚皮苷和新橙皮苷对照品各 10 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 从中各精密量取 5 mL, 同置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取枳壳粉末 (过 40 目筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加 25 mL 甲醇, 水浴回流提取 1.5 h, 滤过, 滤液置 50 mL 量瓶中, 残渣用甲醇再提取两次, 每次加甲醇 10 mL 提取 10 min, 合并提取液, 冷却, 最后加甲醇至刻度, 摇匀。准确吸取该溶液 5 mL 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性范围考察: 精密称取柚皮苷对照品 9.73 mg 和新橙皮苷对照品 9.69 mg, 分别置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述两个对照品溶液各 1、2、3、4、5、6 mL 分别置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得到混合对照品溶液。分别进样 10 μL, 以对照品的量为横坐

收稿日期: 2006-04-10

基金项目: 国家科技部 2002 年“中药材标准及其相关临床疗效评价标准”资助项目 (ZTS-334-17)

作者简介: 杨武亮 (1965—), 男, 江西南昌人, 现为江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室副教授, 硕士生导师, 重点研究方向为中药质量控制。E-mail: yangwuliang@163.com

标,峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程:柚皮苷: $Y = 1\ 664.521\ 19 X + 27.877\ 49$ ($r = 0.999\ 0$);新橙皮苷: $Y = 1\ 865.363\ 71 X + 29.867\ 24$ ($r = 0.999\ 1$)。结果表明柚皮苷进样量在 $0.156 \sim 0.934\ \mu\text{g}$,新橙皮苷进样量在 $0.155 \sim 0.930\ \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$,重复进样 6 次,测定柚皮苷峰面积积分值,RSD 为 1.30% ;测定新橙皮苷峰面积积分值,RSD 为 1.34% 。结果表明具有较好的精密度。

2.6 重现性试验:取枳壳样品约 $0.5\ \text{g}$,精密称定 6 份,按供试品溶液的制备方法制备供试液,测定,测得柚皮苷质量分数 RSD 为 1.24% ;测得新橙皮苷质量分数 RSD 为 2.25% ,表明该方法重现性良好。

2.7 稳定性试验:取新干枳壳药材约 $0.5\ \text{g}$,精密称定,按供试品溶液的制备方法制备供试液,于 1、6、12、24、36、72 h 各进样 $10\ \mu\text{L}$,测得柚皮苷峰面积积分值 RSD 为 1.79% ;测得新橙皮苷峰面积积分值 RSD 为 2.11% ,表明供试品溶液在室温下保存 72 h 内稳定。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。精密称取枳壳样品约 $0.25\ \text{g}$,加入一定量的对照品,按供试品溶液的制备方法制备并测定质量分数,柚皮苷平均回收率为 101.62% ,RSD 为 2.61% ($n = 6$);新橙皮苷平均回收率为 103.12% ,RSD = 2.32% ($n = 6$)。

2.9 样品的测定:取 12 批样品,按 2.3 项下的“供试品溶液制备”方法操作,进样 $10\ \mu\text{L}$,结果见表 1,色谱图见图 1。

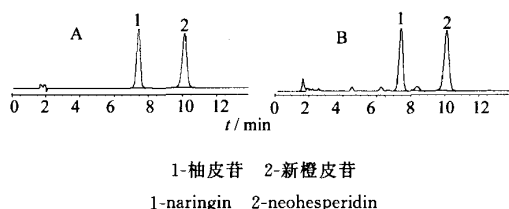


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and *Fructus Aurantii* (B)

表 1 不同产地枳壳药材量的测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Determination of *Fructus Aurantii* from various habitats ($n = 3$)

样品名称	来源	新橙皮苷/ %	柚皮苷/ %	性状鉴定质 量优劣情况
川枳壳	重庆江津县	5.315	5.786	好
川枳壳	重庆兼江县	5.117	4.734	好
苏枳壳	浙江兰溪 (大暑前)	5.953	8.341	好
苏枳壳	浙江兰溪 (大暑后)	3.012	4.407	好
湘枳壳	湖南沅江秋枳壳	2.915	4.486	差
湘枳壳	沅江绿衣枳壳	2.791	4.751	差
湘枳壳	沅江产,江西樟树购	3.373	6.454	好
湘枳壳	湖南怀化	5.138	9.141	好
江枳壳	江西樟树吴城乡	4.276	3.781	好
江枳壳	购于江西樟树	4.180	4.784	好
江枳壳	江西新干臭橙	7.439	6.426	好
江枳壳	江西新干香橙 (杂交)	0.629	0.599	好

3 讨论

3.1 柚皮苷和新橙皮苷的量:《中国药典》2005 年版一部中规定枳壳中柚皮苷的量不得少于 4.0% 。以上 12 种不同产地枳壳药材柚皮苷的量测定结果表明,有 10 种药材中柚皮苷稍大于或大于 4.0% ,平均值为 5.31% ,表明不同产地枳壳药材质量不一,需要控制其质量;从新橙皮苷测定结果看,大于 2.0% 的枳壳药材有 11 种,平均值为 4.18% ,建议枳壳药材增加新橙皮苷的定量测定。

3.2 提取方法和溶剂的选择^[2]:《中国药典》2005 年版一部中的提取方法是回流提取法,本实验分别考察了索氏提取法和直接回流法,提取效率相差不大,但直接回流法提取时间较短,操作简便,故采取直接回流法,又分别考察了等量的水、 70% 乙醇和甲醇对供试品的提取效率,结果提取率几乎相等,但因热水和 70% 乙醇的提取液中含有较多的糖类和果胶类物质,影响色谱柱寿命,故选用甲醇作为供试品的提取溶剂。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Yang W L, Yang S L, Li Y F, et al. Comparison of the extracting methods of flavonoids in *Fructus Aurantii* [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med* (江西中医学院学报), 2005, 17(2): 35-36.

《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明:论文内容真实,作者排名无争议,无一稿两投,无泄密)。
2. 创新性论文优先发表,新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费,但刊用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和 E-mail)。