

升脾颗粒中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定

沈震亚

(江中药业股份有限公司 南昌 330046)

摘要:目的:建立升脾颗粒中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法(HPLC)进行测定,色谱条件为:色谱柱:Dikma Diamonsil C18 柱(4.6 mm× 250 mm,5 μm),流动相:乙腈—0.1%磷酸(22:78);流速:1.0 ml/min;检测波长:283 nm,柱温:30 ℃。结果:柚皮苷在浓度 12.024~150.3 μg/ml、新橙皮苷在浓度 12.828~160.35 μg/ml 范围内,其进样浓度与峰面积呈良好的线性关系;柚皮苷和新橙皮苷的平均回收率分别为 100.90%(RSD=1.63%)和 101.10%(RSD=1.89%)。结论:采用高效液相色谱法同时测定升脾颗粒中柚皮苷和新橙皮苷含量,方法准确可行,适用于该制剂的含量测定。

关键词:升脾颗粒;HPLC;柚皮苷;新橙皮苷;含量测定

中图分类号:R927.2

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2017.12.101

升脾颗粒收载于《国家中成药标准汇编》内科脾胃分册,处方由黄芪、党参、枳壳、白术和升麻组成,功能升阳益气。用于气虚下陷、劳伤虚损引起的胃下垂、子宫下垂、脱肛等症。枳壳为方中主药,主要含黄酮类、挥发油、生物碱、香豆素及三萜皂苷类成分^[1],具理气宽中、行滞消胀的功效,用于胸胁气滞、食积不化、脏器下垂等^[2],原收载标准中仅对其主要特征成分之一柚皮苷进行了含量测定,2015 版《中国药典》中规定了枳壳药材中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定方法及限度。因此,为了提高本产品的质量,我们对升脾颗粒中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定进行了方法学研究,建立了升脾颗粒中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定方法。现报告如下:

1 仪器与材料

1.1 仪器 岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪(LC-solution 工作站,LC-20AD 二元泵,SPD-20A 紫外检测器),CQ-250 超声波清洗器(上海船舶电子设备研究所),Simplicity TM 型超纯水系统(Millipore 中国有限公司),AG-135 电子天平(梅特勒-托利多上海有限公司)。

1.2 材料 柚皮苷对照品(含量测定用,批号:110722-201613,中国食品药品检定研究院);新橙皮苷对照品(含量测定用,批号:111857-201102,中国食品药品检定研究院);升脾颗粒(批号:161201、161202、161203、170101、170102、170103,自制);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Dikma Diamonsil C18 柱(4.6 mm× 250 mm,5 μm),流动相:乙腈—0.1%磷酸(22:78);流速:1.0 ml/min;检测波长:283 nm,柱温:30 ℃。

2.2 对照品溶液制备 取柚皮苷和新橙皮苷对照品各约 10 mg,精密称定,加甲醇使之溶解并稀释成每 1 ml 含柚皮苷 30.06 μg 和新橙皮苷 32.07 μg 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 取本品研细,取 0.30 g,精

密称定,置 25 ml 容量瓶中,加甲醇至近刻度,超声处理 30 min,放冷,补足甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液用微孔滤膜(孔径 0.45 μm)滤过,即得。

2.4 阴性对照溶液制备 取未加枳壳的其余药材按供试品制法制成阴性对照样品,取 0.30 g,精密称定,按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备,即得。

2.5 阴性对照试验 在 2.1 的色谱条件下,柚皮苷和新橙皮苷与其他色谱峰的分离效果均较好,且与阴性对照溶液进样后无干扰,说明处方中其余各味药对这两种成分的检测无干扰。见图 1。

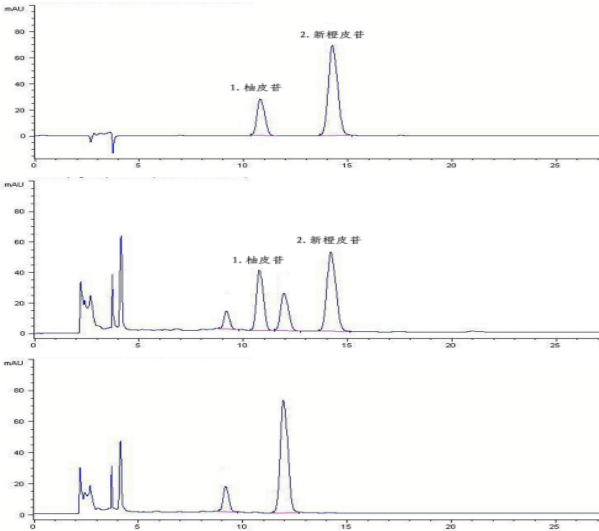


图 1 对照品溶液-供试品溶液-阴性对照溶液色谱图

2.6 线性范围 取柚皮苷和新橙皮苷对照品各约 10 mg,精密称定,加甲醇使之溶解并稀释成每 1 ml 含柚皮苷 0.300 6 mg 和新橙皮苷 0.320 7 mg 的混合对照品储备液,将储备液加甲醇分别稀释至 2、2.5、5、10、12.5、25 倍量体积的不同浓度的混合对照品溶液。分别吸取各浓度的混合对照品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪中。以对照品浓度(μg/ml)为横坐标、峰面积(mAU)为纵坐标,绘制标准曲线图,得回归方程。柚皮苷:Y=1 849.799 65X+1 905.716 2, r=0.999 9;新橙皮苷:Y=2 381.575 214X+715.342 34, r=0.999 9,表明柚皮苷在浓度 12.024~150.3 μg/ml、

新橙皮苷在浓度 12.828~160.35 μg/ml 范围内，其进样浓度与峰面积呈良好的线性关系。见图 2。

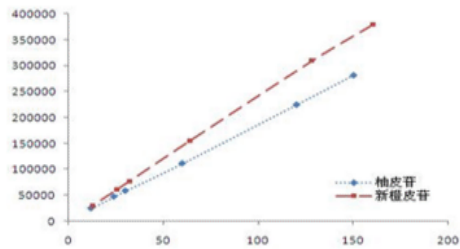


图 2 标准曲线图

2.7 精密度试验 精密吸取每 1 ml 含柚皮苷 30.06 μg 和新橙皮苷 32.07 μg 的混合对照品溶液 10 μl，按 2.1 所述色谱条件重复进样 6 次，测定峰面积。结果显示柚皮苷和新橙皮苷峰面积值的 RSD 分别为 1.31%和 1.12%(n=6)。表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10

μl，于 0、1、2、4、6、8、12 h 分别进样 1 次，测定峰面积。结果显示，供试品中柚皮苷和新橙皮苷的峰面积 RSD 分别为 1.48%和 1.29%。表明在 12 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.9 重复性试验 取同一批号制剂 6 份，照 2.3 项下供试品溶液的制备方法制成供试品溶液，测定并计算含量。结果显示，柚皮苷和新橙皮苷的含量 RSD 分别为 0.96%和 1.95%(n=6)。

2.10 加样回收率试验 取已知含量的本品适量，研细，取约 0.15 g，共 6 份，精密称定，分别置于 25 ml 的容量瓶中，分别精密加入每 1 ml 含 0.100 2 mg 柚皮苷和 0.106 9 mg 新橙皮苷的混合对照品溶液 3 ml，加甲醇至近刻度，按 2.3 项的方法制备成加样回收样品溶液。进样 10 μl 进行测定并计算回收率，柚皮苷与新橙皮苷的平均回收率分别为 100.90%和 101.10%，RSD 分别为 1.63%和 1.89%。见表 1。

表 1 回收率测定结果

编号	样品中含量(mg)		加入对照品量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		平均回收率(%)
	柚皮苷	新橙皮苷	柚皮苷	新橙皮苷	柚皮苷	新橙皮苷	柚皮苷	新橙皮苷	
1	0.343 5	0.279 2	0.300 6	0.320 7	0.639 6	0.610 5	98.50	103.31	柚皮苷： 100.90 RSD=1.63 新橙皮苷： 101.10 RSD=1.89
2	0.342 8	0.278 7	0.300 6	0.320 7	0.642 3	0.599 6	99.63	100.06	
3	0.346 0	0.281 3	0.300 6	0.320 7	0.655 9	0.596 5	103.09	98.29	
4	0.340 1	0.276 4	0.300 6	0.320 7	0.646 1	0.605 4	101.80	102.59	
5	0.343 3	0.279 0	0.300 6	0.320 7	0.648 9	0.606 9	101.66	102.25	
6	0.350 1	0.284 6	0.300 6	0.320 7	0.652 8	0.605 7	100.70	100.12	

2.11 样品含量测定 取批号为 161201、161202、161203、170101、170102、170103 的升脾颗粒，按 2.3 项所述方法制备成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μl，注入高效液相色谱仪中，测定。见表 2。

表 2 6 批制剂中柚皮苷和新橙皮苷含量结果(mg/袋)

批号	161201	161202	161203	170101	170102	170103
柚皮苷	22.87	23.18	22.53	23.78	23.34	23.24
新橙皮苷	18.59	19.05	18.76	19.85	19.13	19.78

3 讨论

根据《中医病证诊断疗效标准》辨证分型，“内脏下垂”属中气下陷^[3]。中医认为脾气有开发之性，若脾虚升举无力，会引起中气下陷，故临床对气虚下陷所致的内脏下垂往往从脾论治^[4]。枳壳功能理气宽中、行滞消胀，是临床调理脾胃的常用中药。现代药理研究表明，枳壳对不同机体状态下的胃肠平滑肌张力有双向调节作用，杨武亮等^[5]通过对枳壳提取物的活性跟踪发现，其不同剂量的氯仿提取部位对正常小鼠的胃肠运动分别起到促进和抑制作用，并且经临床证实枳壳煎剂对因胃平滑肌松弛、张力下降所致的胃下垂患者具有良好的治疗效果^[6]。枳壳主要含黄酮类、挥发油、生物碱、香豆素及三萜皂苷类等成分，二氢黄酮、黄酮和多甲氧基黄酮等黄酮类成分为其特征成分，包括柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷、川陈皮素和红菊素等，其中以二氢黄酮类的柚皮

苷和新橙皮苷含量最高^[5-7]。本制剂主要功效为升阳举陷，因此选取对脏器下垂有治疗作用的枳壳中的柚皮苷和新橙皮苷进行含量测定合理有效。

预试验方法研究中，参考 2015 版《中国药典》中枳壳药材的含量测定方法^[2]，选取甲醇作为提取溶剂，先后比较了回流与超声处理不同提取方法对样品检出的影响，发现不同的提取方法对该两种成分的提取效果无明显差异；同时分别对超声提取用 15 ml、25 ml 和 50 ml 甲醇和超声提取 20 min、30 min、45 min 和 60 min 的效果进行了考察，最终确定以甲醇 25 ml 超声提取 30 min 的提取效果佳，且操作简便、经济可行。结合以上方法学考察的结果，最终建立了升脾颗粒中柚皮苷和新橙皮苷的含量测定方法。

参考文献

[1]何英杰,刘东波,唐其,等.酸橙类中药材枳实和枳壳化学成分研究进展[J].中药材,2017,40(6):1488-1494
[2]国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:中国医药科技出版社,2015.246-247
[3]刘亮先,王祖红,段晓荣.滞动针联合补中益气汤加减治疗胃下垂疗效观察[J].上海针灸杂志,2017,36(5):558-562
[4]陈长龙,徐淑江.内脏下垂从肝论治[J].四川中医,1999,17(4):14
[5]杨武亮,陈海芳,余宝金,等.枳壳活性化学成分研究[J].中药材,2008,31(12):1812-1815
[6]陈振鹤,吴国泰,任远.枳壳的化学成分·药理作用及临床应用[J].安徽农业科学,2016,44(26):95-97
[7]邓可众,丁邑强,周斌,等.枳壳化学成分的分离与鉴定[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(14):36-38

(收稿日期: 2017-08-28)