

HPLC 测定不同产地佛手中橙皮苷的含量

曾建伟¹, 吴锦忠¹, 林忠宁^{2*}, 陈敏健²

(1. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福州 350108;
2. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福州 350013)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定不同产地佛手中橙皮苷的含量。方法: 采用 Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-2% 醋酸溶液 (18:82), 体积流量 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 284 nm, 柱温 30 °C。结果: 橙皮苷在 2.24 ~ 44.8 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 98.55%, RSD 0.97% ($n=6$)。结论: 该方法简便, 准确, 可用于佛手药材的品质评价。

[关键词] 佛手; 橙皮苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0097-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1140.013.html>

[网络出版时间] 2012-07-31 11:40

Determination of Hesperidin in Fructus Citris Sarcodactylis from Different Provenances by HPLC

ZENG Jian-wei¹, WU Jing-zhong¹, LIN Zhong-ning^{2*}, CHEN Min-jian²

(1. Academy of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China;
2. Institute of Agricultural Ecology, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350013, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method of determining the content of hesperidin in Fructus Citris Sarcodactylis from different provenances. **Method:** An ultimate XB-C₁₈ column was used. The mobile phase was acetonitrile and 2% acetic acid solution (18:82). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ with the column

[收稿日期] 20111109(016)

[基金项目] 福州市科技计划项目(2010-PT-130)

[第一作者] 曾建伟, 助理研究员, 从事中药分析, Tel:0591-22861255, E-mail: zjwtem@qq.com

[通讯作者] * 林忠宁, 副研究员, 从事中药材开发利用研究, E-mail: lzhongning@126.com

- [5] 方华民, 周凯, 鞠爱华. 高效液相色谱法测定薯蓣中绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(6): 785.
- [6] 田代毕. 实用中药大辞典. 下卷[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1199.
- [7] 牛迎风, 邵赞, 赵晓辉, 等. 几种花类药材中芦丁含量的测定[J]. 分析实验室, 2008, 27(5): 26.
- [8] 陈秋虹, 徐慧, 蒋艳芳. 高效液相色谱法测定桑叶中的绿原酸和芦丁的含量[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(5): 663.
- [9] 吴迪, 王峥涛, 张勉. 高效液相色谱法同时测定款冬花中芦丁、异槲皮苷、绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2722.
- [10] 张文懿, 杨天寿, 王旭鹏, 等. HPLC 法测定款冬花中绿原酸和芦丁的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(12): 2106.
- [11] 沙世炎. 中草药有效成分分析法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 511.
- [12] 裴香萍, 杜晨晖, 阎艳, 等. HPLC-UV 测定不同产地及不同采收期酸枣叶中芦丁的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 94.

[责任编辑 顾雪竹]

temperature of 30 °C. The detection wavelength was set at 284 nm. **Result:** The linear range of hesperidin was 2.24-44.8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 0.9999$). The average recovery was 98.55%, and RSD was 0.97% ($n = 6$). **Conclusion:** This method is simple, accurate, and can be used to evaluate the quality of Fructus Citris Sarcodactylis.

[**Key words**] Fructus Citris Sarcodactylis; hesperidin; HPLC

佛手系芸香科植物佛手的干燥果实,具有舒肝理气、止痛和胃、燥湿化痰的功效,用于治疗肝胃气滞,胸胁胀痛,胃脘痞满,食少呕吐,咳嗽痰多等疾病^[1]。佛手含有香豆素、黄酮和挥发油等化学成份,其中橙皮苷及其衍生物,具有抗氧化^[2-3]、抗炎^[4-5]等药理活性,故将橙皮苷作为佛手的质控成分。佛手因产地不同,品种主要有广佛手、川佛手、金佛手和建佛手等。有关橙皮苷的含量测定虽有报道^[6-10],但未见不同产地佛手中橙皮苷含量测定的报道。作者建立 HPLC 测定佛手中橙皮苷的含量,为评价不同产地佛手的品质提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(包括四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、化学工作站)(美国 Agilent 公司),CP225D 型电子天平(德国 Sartorius 公司),KQ-500E 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司),Millipore 型超纯水机(法国 Millipore 公司)。乙腈为色谱纯,甲醇、冰醋酸等为分析纯。

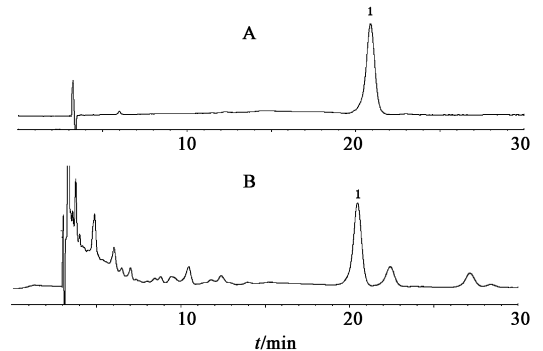
广佛手采自广东省德庆县武垄镇武垄村,川佛手采自四川省沐川县新繁乡新塘村,金佛手采自浙江省金华市金东区赤松镇山口村,建佛手采自福建省福安市甘棠镇过洋村,均由福建中医药大学杨成梓教授鉴定为芸香科植物佛手 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle 的干燥果实。橙皮苷对照品(批号 110721-200613,中国药品生物制品检定所)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-2% 醋酸溶液(18:82),体积流量 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 284 nm,柱温 30 °C,进样量 20 μL 。在此色谱条件下,橙皮苷理论塔板数不低于 5 000,分离度 > 1.5,对照品和样品色谱图,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷对照品 4.48 mg 置 100 mL 的量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配成对照品储备液。精密量取 3 mL 对照品储备液,置 10 mL 的量瓶中,用甲醇稀释至刻度即得。

2.3 供试品溶液的制备 称取佛手粉末约 0.5 g,



A. 对照品; B. 样品; 1. 橙皮苷

图 1 对照品和样品 HPLC

置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL 溶解,密塞,称重;超声提取 30 min,放冷,称重,用甲醇补足减失的质量,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系考察 分别精密量取 0.5, 1, 2, 5, 10 mL 对照品储备液,置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,按 2.1 项下色谱条件,分别精密量取 20 μL 注入高效液相色谱仪,记录峰面积,以峰面积 Y 为纵坐标,对照品质量浓度 X 为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $Y = 16.014X - 1.536$ ($r = 0.9999$),表明橙皮苷在 2.24 ~ 44.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.5 精密度试验 取橙皮苷对照品溶液,连续进样 6 次,记录色谱图,计算峰面积的 RSD 1.92%。

2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,每隔 2 h 进样一次,共进样 6 次,橙皮苷峰面积的 RSD 0.59%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.7 重复性试验 称取佛手粉末约 0.5 g,共 6 份,按 2.3 项下的方法制备供试品溶液,进样测定,计算橙皮苷的平均含量为 0.61 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.74%。

2.8 回收率试验 称取已知含量佛手粉末约 0.25 g,共 6 份,分别置具塞锥形瓶中。另精密称取橙皮苷对照品 12.25 mg,置 250 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,分别精密吸取 3 mL 置上述具塞锥形瓶中,按 2.3 项下的方法制备供试品溶液,进样测定,计算橙皮苷的平均回收率为 98.55%,RSD 0.97%,结果见表 1。

表1 橙皮苷加样回收率试验($n=6$)

称样量 /g	样品中 含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.251	150.6	147.0	295.8	98.74	98.55	0.97
0.247	148.2	147.0	295.0	99.84		
0.254	152.4	147.0	298.2	99.22		
0.255	153.0	147.0	297.8	98.50		
0.248	148.8	147.0	291.8	97.29		
0.256	153.6	147.0	297.2	97.69		

2.9 样品测定 称取不同产地佛手粉末约0.5 g,每个产地取3份,置具塞锥形瓶中,按2.3项下的方法制备供试品溶液,进样测定,以外标法计算含量,结果见表2。

表2 不同产地佛手中橙皮苷的质量分数($n=3$)

No.	样品来源	质量分数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
1	四川沐川	0.78	0.92
2	广东德庆	0.55	1.57
3	浙江金华	0.16	1.84
4	福建福安	0.60	0.85

3 讨论

3.1 提取方法 以甲醇为溶剂,分别采用索氏提取法、超声波提取法、回流提取法进行提取,索氏的提取率最低,超声与回流制的提取率相当,由于超声提取法简便、省时,故本实验选用超声提取法制备供试品溶液。

3.2 提取溶剂 分别以甲醇、水、95%乙醇为提取溶剂,进行超声波提取,甲醇为溶剂的提取率明显高于其他两种溶剂,故选择甲醇为提取溶剂。

3.3 流动相的优化 比较了甲醇-2%醋酸的不同

配比,但都不能出现较好的峰形,故将有机相甲醇改为乙腈。根据色谱图,不断优化,结果以乙腈-2%醋酸(18:82)分离效果最好,且出峰时间适宜。

3.4 含量差异 从表2知,不同产地的佛手中橙皮苷的含量差别较大。4个主产地的佛手,以川佛手含量最高,广佛手、建佛手次之,而金佛手的含量最低。这为选用佛手药材提供了一种参考。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:167.
- [2] 杨璇璇,朱思明,于淑娟,等. 橙皮苷-铜配合物的结晶与抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2008, 24(11):1096.
- [3] 朱思明,于淑娟,杨连生,等. 橙皮苷及其衍生物抗氧化活性的机理分析[J]. 华南理工大学学报:自然科学版, 2005, 33(4):79.
- [4] 彭磊,张茜,李荣,等. 橙皮苷衍生物抗炎活性的筛选研究[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(1):36.
- [5] 李荣,胡成穆,姜辉,等. 橙皮苷的提取及其抗炎活性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2007, 42(5):546.
- [6] 王玉生,严振,汪小根,等. HPLC法测定广佛手中橙皮甙的含量[J]. 中药材, 2003, 26(8):564.
- [7] 宋剑锋,富同义. RP-HPLC法测定佛手饮片中橙皮苷含量[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(5):1036.
- [8] 张瑞芳,高幼衡,崔红花,等. 广佛手药材 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药, 2007, 38(7):1075.
- [9] 孙冬梅,毕晓黎,胥爱丽,等. HPLC法测定不同产地陈皮药材中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11):1.
- [10] 戴敬,郝培培,杨晓婧,等. HPLC测定女金丸中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16):78.

[责任编辑 顾雪竹]