

相关, 为采用花旗松素或槲皮素单一成分评价水红花子的质量提供一定依据。

水红花子中花旗松素和槲皮素在同一色谱条件下进行测定的色谱条件作者未见文献报道, 本实验采用 HPLC 波长切换法对水红花子中花旗松素和槲皮素的含量进行测定, 具有快速、简便、准确、重复性好、分离度好的特点, 可用于水红花子药材的内在质量控制, 也为合理利用水红花子这一资源提供依据。

不同产地含量测定表明, 各地的水红花子中有效活性成分的含量差异较大, 其中以江苏、安徽、浙江等地含量较高, 为临床水红花子的应用提供一定的理论依据。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 77.
- [2] CHINESE HERBAL MEDICINE COMMISSION. Chinese

- Herbal Medicine(中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 681-683.
- [3] QIAO H, XIE J, ZHANG X Y. Douglas fir in biological activity and its application [J]. Chin Tradit and Herb Drugs(中草药), 2003, 34(8): 15-17.
 - [4] XUE B, LI F Y. Determination of quercetin in chinese herbal medicine reserach [J]. Jiangxi Chemica(江西化工), 2006, 4(12): 9-14.
 - [5] ZHENG Z J, ZHAI Y J, ZHANG H, et al. HPLC determination of taxifolin in polygonum orientale different harvest [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2008, 39(12): 1890-1891.
 - [6] HAO X L, ZHANG Y W. Chinese medicine quality standards establish the necessity of multiple indicator determination talking [J]. Chinese Practicing Pharmacists(中国执业药师), 2009, 6(9): 31-33.
 - [7] CHEN X Y, BI K S, YI L X, et al. Simultaneous determination of four components in guizhi-gancao decoction by HPLC with double-wavelength switch [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(3): 265-267.

收稿日期: 2012-09-05

HPLC 测定中医滋补膏方中橙皮苷含量

杨道纳¹, 蔡天进¹, 刘金来^{2*}, 李笑慧², 周曙华² (1. 苍南县人民医院, 浙江 苍南 325800; 2. 温州市人民医院, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定中医滋补膏方中橙皮苷含量的方法。方法 采用 Hypersil ODS2 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈-甲酸缓冲液(取甲酸 1.7 mL, 加水, 再加三乙胺 1.8 mL, 定容至 1 000 mL)(20 : 80)为流动相; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 283 nm, 柱温为 30 °C, 进样量为 20 μL。结果 橙皮苷 2.1~12.6 μg·mL⁻¹ 内, 峰面积与浓度呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$), 平均回收率和 RSD 分别为 99.1%和 1.68%。结论 方法简便、可靠, 重复性好, 可用于中医滋补膏方中橙皮苷含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 含量测定; 中医滋补膏方; 橙皮苷

中图分类号: R917.101 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)05-0511-03

Determination of Hesperidin in Herbal Paste by HPLC

YANG Daona¹, CAI Tianjin¹, LIU Jinlai^{2*}, LI Xiaohui², ZHOU Shuhua² (1. Cangnan People's Hospital, Cangnan 325800, China; 2. Wenzhou People's Hospital, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a high performance liquid chromatography method for the determination of the Hesperidin in Herbal Paste. **METHODS** The analytical column was packed with the Hypersil ODS2 column(250 mm×4.6 mm, 5 μm). Mobile phase consisted of Acetonitrile-Methanoic acid buffer solutions(20 : 80), The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the UV detection wavelength was 283 nm. The temperature of the column was 30 °C. The injection volume was 20 μL. **RESULTS** A good linearity was obtained over the range of 2.1–12.6 μg·mL⁻¹ for Hesperidin($r=0.999\ 8$). The average recovery was 99.1% and RSD was 1.68%. **CONCLUSION** This method is simple, reliable, reproducible and can be used for the determination of

基金项目: 2011 年浙江省药学会医院药学科专项基金项目(2011ZYY17)

作者简介: 杨道纳, 男, 副主任药师 Tel: 13806624375 E-mail: ydndn@163.com *通信作者: 刘金来, 男, 主任药师 Tel: 13806888387 E-mail: liujinlai01@126.com

Hesperidin in this preparation.

KEY WORDS: HPLC; determination; herbal paste; hesperidin

近年来,随着人们生活水平的日益提高、保健意识的逐步增强和中医药养生知识的广泛普及,量体用药的膏方因具有提高免疫力、防病治病、延续衰老等综合作用越来越受到人们的欢迎和认可^[1-2]。本中医滋补膏出自《太平惠民和剂局方》中以参苓白术散为基础制成的膏方;本方由党参、陈皮、白术、茯苓、桔梗、砂仁等 11 味药组成;具有健脾益气、和胃除满、渗湿止泻之功能,主治脾胃虚弱、纳呆腹胀、便溏脉虚等症^[3]。该制剂君药党参中的主要成分党参炔苷在处方中含量很低^[4],而且该膏方成分复杂,因此将党参炔苷作为质量检查的检测对象有待于进一步的研究。橙皮苷是陈皮的主要活性成分之一^[5],本实验运用高效液相色谱法对中医滋补膏方中的主要成分之一橙皮苷进行了定量研究,建立了中医滋补膏中橙皮苷含量测定的高效液相色谱法。为确定该制剂的质量标准提供理论依据。

1 仪器与试剂

JASCO 1500 系列四元梯度高效液相色谱仪,包括 PU-1580 型双泵,UV-1575 可变波长紫外检测器,7725 型六通进样器,CKChromTM 色谱工作站(日本分光公司,Version 6.1);橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110721-201115,含量为 95.3%);乙腈为色谱纯;中医滋补膏方(本院自制,批号:20120215,20120525,20120529);甲酸和三乙胺均为分析纯;水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS2(250 mm×4.6 mm, 5 μm)柱;流动相:乙腈-甲酸缓冲液(取甲酸 1.7 mL,加水,再加三乙胺 1.8 mL,定容至 1 000 mL)(20:80);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:283 nm。柱温:30℃。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取减压干燥至恒重的橙皮苷对照品 2.1 mg,置 50 mL 量瓶中,加 75%乙醇溶解后定容,制成 1 mL 含橙皮苷 42 μg 的对照品溶液,备用。

2.2.2 供试品溶液 取中医滋补膏方 1 盒,刮取膏方,重约 1.0 g,精密称定,加入适量 75%乙醇

湿润,研匀后用适量 75%乙醇转移到 10 mL 刻度的离心管中,用 75%乙醇定容至刻度,振摇后以 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,用流动相稀释 10 倍,经 0.45 μm 滤膜过滤后,续滤液即为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液 取除去陈皮的其余药材制备的中医滋补膏方,按“2.2.2”项下方法制备。

2.3 干扰试验

分别吸取对照品溶液、供试品和阴性样品溶液各 20 μL,进样测定,橙皮苷对照品、供试品在 12.2 min 左右出现橙皮苷吸收峰,阴性样品无干扰。结果见图 1。

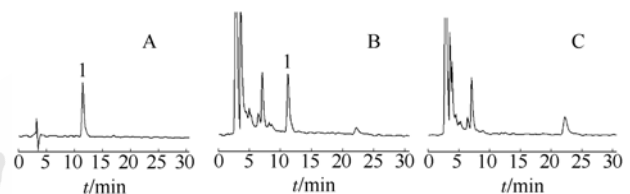


图 1 HPLC 图谱

A-对照品; B-供试品; C-阴性样品; 1-橙皮苷

Fig 1 HPLC Chromatograms

A-reference standards; B-tested sample; C-blank sample; 1-Hesperidin

2.4 线性关系考察

分别吸取橙皮苷对照品贮备液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度作为工作液,进样检测($n=3$),以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,线性回归方程为 $Y=52\ 254X-27\ 351$, $r=0.999\ 8$,橙皮苷在 2.1~12.6 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液 20 μL,连续进样 6 次,测得峰面积 RSD=1.36%($n=6$)。

2.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 20 μL,分别于 0, 1, 2, 4, 8 h 进样,测得峰面积 RSD=1.59%($n=6$),表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批次中医滋补膏方,称取 6 份,精密称定重量,分别制成供试品,按“2.1”项下色谱条件进样,测得橙皮苷含量为 0.846 mg·g⁻¹, RSD=2.03%($n=6$)。

2.8 回收率试验

取已知含量的同一批次中医滋补膏方约 1 g, 精密称定 6 份, 分成 3 组, 各组分别加入浓度为 $0.42 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 橙皮苷对照品备用液 1, 2, 3 mL, 按“2.2.2”项下方法制备, 续滤液再用流动相稀释 1 倍为供试品溶液; 按“2.1”项下色谱条件进样, 测定峰面积, 计算回收率。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery($n=6$)

样品含量/ μg	加样量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/%
4.23	2.1	6.30 ± 0.12	98.6		
4.87	2.1	6.98 ± 0.11	100.5		
3.79	4.2	7.88 ± 0.16	97.4	99.1	1.68
3.67	4.2	7.86 ± 0.11	99.8		
4.31	6.3	10.66 ± 0.19	100.8		
4.05	6.3	10.21 ± 0.16	97.8		

2.9 样品含量测定

取不同批号的 3 批样品, 按“2.2.2”项下方法制备, 按“2.1”项下色谱条件测定橙皮苷的含量。结果见表 2。

表 2 3 批样品中橙皮苷含量($n=3$)

Tab 2 Results of sample Hesperidin($n=3$)

批号	橙皮苷/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
20120215	0.846	2.10
20120525	0.947	2.37
20120529	0.771	2.21

3 讨论

3.1 选用橙皮苷作为该膏方测定对象的原因

本膏方含党参、山药、茯苓、生薏苡仁、莲子肉、扁豆、白术等多味药, 其主要药理活性成分为多糖, 且含量较高, 有关多糖的含量测定已在另外一文发表。其余苷类成分含量相对较少, 而橙皮苷在该方中含量相对较高, 且性质相对比较稳定; 不象党参炔苷, 在浓缩和收膏的高温条件下容易分解; 所以在该方定量方面选用橙皮苷

作为测定对象比较合理。

3.2 供试品处理方法

笔者曾采用甲醇^[6]处理供试品, 结果发现沉淀物中有结块现象, 因而可能会影响橙皮苷的溶解; 同时用甲醇处理样品的杂质峰较多, 分离效果不理想。故采用 75%乙醇溶解处理, 效果相对较好。

3.3 流动相的选择

本实验中曾经采用流动相为无机酸类如磷酸溶液或磷酸盐溶液^[6-7], 结果发现橙皮苷峰与杂质峰能有效分离, 但磷酸溶液或磷酸盐溶液容易堵塞^[8]使用年限较长特别在 10 年以上的高效液相仪的管路, 所以改用有机酸甲酸为缓冲液。

3.4 取样量

由于膏方含水量较大, 称量时受环境湿度变化的影响大, 取样量不能太小($<0.5 \text{ g}$), 取样量 1.0 g 左右较好。

REFERENCES

- [1] SHI H X, TU Y J. Herbal Paste's applications in modern clinical medicine [J]. Chin Commun Doct(professional)(中国社区医师 医学专业), 2012, 14(13): 33.
- [2] LIU Y X, XU S. Xu Shan's experience on treatment of spleen and stomach disease by herbal paste [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med(浙江中医杂志), 2011, 46(1): 12-13.
- [3] LIANG F. Clinical application of Shenling baishu san [J]. Neimonggu J Tradit Chin Med(内蒙古中医药), 2010, 15(15): 63-64.
- [4] GUO Q, SUN S, LU X. Pretreatment and RP-HPLC determination of lobetyolin in Yiqi Zhixue granules [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2009, 10(5): 364-366.
- [5] CAO M X. Developments in the research of Hesperidin extraction from Dried tangerine peel and its pharmacological activity [J]. Guide China Med(中国医药指南), 2012, 10(12): 452-454.
- [6] HUANG K J, WANG J. Determination of Hesperidin in Huoxiang Zhengqi soft capsule by HPLC [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2011, 12(2): 117-119.
- [7] HUANG R P, CHEN F F, TENG J, et al. Quantitative research of dried tangerine peel decocting method [J]. Chin Rem Clin(中国药物与临床), 2011, 11(10): 1189.
- [8] KANG Y P, XU J G, ZHAO X L, et al. Determination of Naringin in Zhishu granules by HPLC-PDA [J]. Neimonggu J Tradit Chin Med(内蒙古中医药), 2010, 29(20): 57-58.

收稿日期: 2012-12-31