

复方新会陈皮含片中橙皮苷的含量测定

林子安, 梁志云, 陈小龙, 昌水平, 李志成 (广东省江门市新会区中医院, 广东江门 529100)

摘要: **目的** 建立复方新会陈皮含片中橙皮苷含量的测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法, 以Inertsil ODS-SP柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸溶液(22:78)为流动相, 检测波长为284 nm, 流速为1 mL/min, 柱温为35 ℃。**结果** 橙皮苷的进样浓度在10.4~83.2 mg/L范围内, 与峰面积积分值呈良好的线性关系; 回归方程为 $y=19\,115x+4\,311.8$ ($r=0.9998$); 平均加样回收率为100.39%, RSD=0.6% ($n=6$)。**结论** 高效液相色谱法测定复方新会陈皮含片中橙皮苷的含量, 方法稳定、简便, 重复性好, 可用于复方新会陈皮含片的质量控制。

关键词: 复方新会陈皮含片; 橙皮苷; 含量测定

中图分类号: R 927.2

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2018)06-0632-04

Content determination of hesperidin in compound Xinhui pericarpium citri reticulatae buccal tablets

LIN Zi-an, LIANG Zhi-yun, CHEN Xiao-long, CHANG Shui-ping, LI Zhi-cheng (Xinhui Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangmen 529100, China)

Abstract: **Objective** To establish the method for content determination of hesperidin in compound Xinhui pericarpium citri reticulatae buccal tablets. **Methods** High performance liquid chromatography was used, and the chromatographic conditions were as follows: Inertsil ODS-SP column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (22:78) at a flow rate of 1.0 ml/min under a detection wavelength at 284 nm. The column temperature was 35 ℃. **Results** The sampling concentration of hesperidin had a good linear relation with integral value of peak area within the scope of 10.4-83.2 mg/L; the regression equation was $y=19\,115x+4\,311.8$ ($r=0.9998$); the average recovery rate was 100.39% (RSD=0.6%, $n=6$). **Conclusion** The high performance liquid chromatography is stable, simple and repeatable in determining the content of hesperidin in compound Xinhui pericarpium citri reticulatae buccal tablets, and can be used for quality control of compound Xinhui pericarpium citri reticulatae buccal tablets.

Key words: compound Xinhui pericarpium citri reticulatae buccal tablets; hesperidin; content determination

我院特制的陈皮片制品以道地药材新会陈皮为主药, 含蛇胆、甘草、氯化钠等成分, 具有顺气化痰、祛风健胃的功效^[1], 用于风寒咳嗽、痰多呕逆, 临床疗效显著。但是该制品剂型比较原始, 在质量控制方面也未做过相关研究, 严重阻碍了这一制品的生产发展。复方新会陈皮含片以该制品为基础, 利用现代技术研制而成。参照中国药典中有关陈皮药材的测定标准^[2], 本文以橙皮苷作为检测指标, 采用高效液相色谱法, 对该含片建立了有效的质量控制方法, 现将结果报道如下。

1 仪器和试剂

基金项目: 江门市新会区科技局项目(No. 201601)

收稿日期: 2018-08-15; 修订日期: 2018-10-25

作者简介: 林子安(1974-), 男, 本科, 副主任药师。

岛津LC-20A高效液相色谱仪(日本); 超声波清洗机(洁康超声波设备有限公司); HZK-FA210电子天平(福州华志科学仪器有限公司)。

橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110721-201316); 复方新会陈皮含片(江门市新会区中医院配制, 规格: 每片重0.8 g); 甲醇、乙腈为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为超纯水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-SP柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液(22:78); 检测波长: 284 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 35 ℃; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取橙皮苷对照品约10

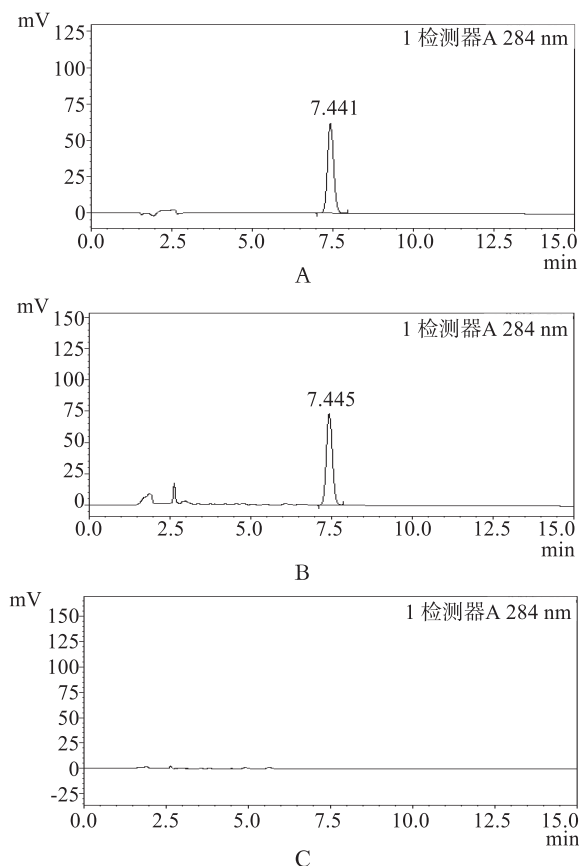
mg, 置25 mL量瓶中, 用甲醇溶液溶解并定容至刻度, 摇匀, 作为橙皮苷对照品溶液储备液。精密吸取1 mL置10 mL量瓶中, 加甲醇溶液至刻度, 摇匀, 作为橙皮苷对照品溶液, 质量浓度为40 mg/L。

2.2.2 供试品溶液 取复方新会陈皮含片研磨成粉末, 精密称取粉末约1 g, 置50 mL量瓶中, 加甲醇溶液至刻度, 超声处理30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的量。精密吸取2 mL置10 mL量瓶中, 加甲醇溶液至刻度, 摇匀, 0.45 μm微孔滤膜过滤, 取滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 取缺少陈皮药材的阴性对照样品, 参照“2.2.2”项制备阴性对照溶液。

2.3 系统适应性试验考察

在上述色谱条件下, 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μL, 分别注入高效液相色谱仪, 测定。结果表明, 供试品的保留时间和峰型与对照品一致, 且阴性对照无干扰。见图1。



A. 橙皮苷对照品; B. 复方新会陈皮含片; C. 阴性对照品

图1 高效液相色谱图

2.4 线性关系

精密量取橙皮苷对照品溶液储备液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 mL, 分置于10 mL量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为10.4、20.8、41.6、

62.4和83.2 mg/L的溶液。分别精密吸取10 μL注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积 y 积分值为纵坐标, 橙皮苷进样量 x 为横坐标进行回归分析, 得回归方程: $y=19\ 115x+4\ 311.8$, 相关系数 $r=0.9998$ 。结果表明, 在上述色谱条件下, 橙皮苷进样量在0.0025~0.02 μg范围内与峰面积值呈良好的线性关系。见图2。

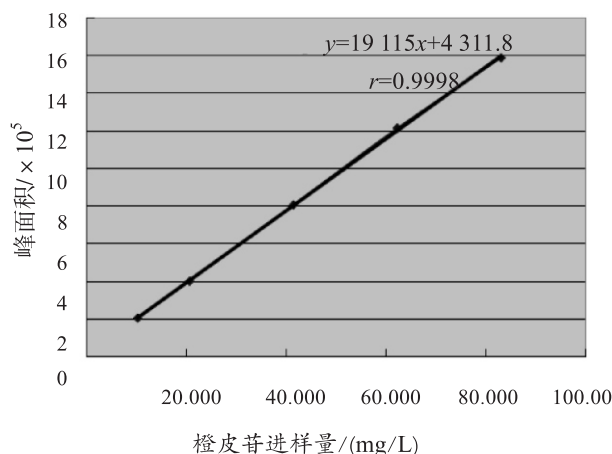


图2 橙皮苷线性关系图

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下橙皮苷对照品溶液10 μL, 在上述色谱条件下, 按“2.1”色谱条件连续进样6次, 测定橙皮苷对照品峰面积值的RSD为0.38%, 表明精密度良好。见表1。

表1 橙皮苷对照品精密度

进样次数	峰面积/($\times 10^5$)	RSD/%
1	8.052	0.38
2	8.104	
3	8.022	
4	8.024	
5	8.055	
6	8.032	

2.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液10 μL, 在0、2、4、6、8、10、12、24 h进样, 试验结果表明复方新会陈皮含片供试品溶液在24 h内稳定, 供试品中橙皮苷峰面积的RSD为0.22%。见表2。

2.7 重复性试验

精密称取复方新会陈皮含片1 g, 共6份, 按“2.2.2”项的方法制备供试品溶液, 测定峰面积, 并计算橙皮苷含量。橙皮苷的平均含量为11.3343 mg/g, RSD为0.21%, 说明本法重复性好。见表3。

表2 复方新会陈皮含片的稳定性试验

进样时间/h	峰面积/($\times 10^5$)	RSD/%
0	9.314	0.22
2	9.325	
4	9.300	
6	9.353	
8	9.290	
10	9.323	
12	9.342	
24	9.312	

2.8 回收率试验

采用加样回收法试验。取已知橙皮苷含量的复方新会陈皮含片(批号：20171109，橙皮苷的含量为11.3343 mg/g)，精密称取0.5 g，共6份，分别置于50

mL量瓶中，加入一定量的橙皮苷对照品，按“2.2.2”项的方法制备供试品溶液，测定峰面积，并计算橙皮苷的含量。橙皮苷的平均回收率为100.39%，RSD为0.60%，结果见表4。

表3 复方新会陈皮含片的重复性试验

供试品	峰面积/ ($\times 10^5$)	橙皮苷含量/ (mg/g)	橙皮苷平均含量/ (mg/g)	RSD/ %
1	9.355	11.3689	11.3343	0.21
2	9.340	11.3515		
3	9.314	11.3199		
4	9.323	11.3301		
5	9.325	11.3328		
6	9.300	11.3028		

表4 复方新会陈皮含片中橙皮苷的加样回收率

编号	样品量/g	样品含橙皮苷/mg	加入橙皮苷/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.5097	5.7771	5.20	10.9814	100.07	100.39	0.60
2	0.5060	5.7352	5.20	10.9195	99.73		
3	0.5079	5.7567	5.20	10.9676	100.19		
4	0.5032	5.7034	5.20	10.9151	100.20		
5	0.5049	5.7227	5.20	11.0049	101.44		
6	0.5082	5.7601	5.20	11.0009	100.71		

2.9 样品含量测定

按“2.2.2”项处理方法配置，精密吸取供试品溶液与对照品溶液10 μ L，注入高效液相色谱仪，外标法计算样品中橙皮苷的含量，结果见表5。

表5 复方新会陈皮含片中橙皮苷含量的测定结果 (n=3)

批号	橙皮苷含量/(mg/g)	RSD/%
20171109	11.3343	0.21
20180115	11.1684	0.52
20180326	11.2928	0.38

3 讨论

3.1 流动相的选择

本试验尝试选择甲醇-0.1%磷酸溶液^[1]、乙腈-0.1%磷酸溶液^[2-4]、乙腈-水-冰乙酸溶液^[5]作为流动相进行试验考察。检测结果显示，选用甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-水-冰乙酸溶液为流动相均不能很好地分离样品中的橙皮苷峰和其他成分峰，对检测有干扰；选用乙腈-0.1%磷酸溶液(22:78)为流动相，样品中橙皮苷峰和其他成分峰基线分离，同时检测

缺陈皮的阴性空白对照溶液无干扰。因此，选用乙腈-0.1%磷酸溶液(22:78)为流动相。

3.2 样品提取方法的选择

分别采用加热回流法和超声提取法进行试验。加热回流法^[6]：样品加甲醇50 mL分别加热回流1、2 h，测得的橙皮苷含量变化不大，可见回流1 h成分已提取完全，但杂峰较多。超声提取法^[7]：样品加甲醇50 mL超声15、30、45 min，测得结果显示超声15 min提取样品的橙皮苷含量低于30、45 min提取的橙皮苷含量；超声30、45 min提取样品的橙皮苷含量一致。实验表明超声提取法测得的橙皮苷含量高于加热回流法，其他杂峰较少，提取方法简便。因此，采用超声方法处理样品。

实验研究表明，采用高效液相色谱法，以Inertsil ODS-SP柱(150 mm $\times$ 4.6 mm，5 μ m)为色谱柱，以乙腈-0.1%磷酸溶液(22:78)为流动相，检测波长为284 nm，能有效测定复方新会陈皮含片中橙皮苷的含量，方法稳定、简便、重复性好，可用于复方新会陈皮含片的质量控制，为制定质量标准提供了依据。

参考文献:

- [1] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011: 347.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 191, 1488-1489.
- [3] 谭丹, 朱迪, 陆苑, 等. 益肾养元颗粒中陈皮的鉴别和橙皮苷含量的测定[J]. 贵阳医学院学报, 2015, 40(10): 1036-1039.
- [4] 谭丽荷. 陈皮四物片中橙皮苷的含量测定[J]. 中国当代医药, 2015, 9(22): 88-90.
- [5] 徐宁宁. HPLC法测定胃舒口服液中橙皮苷的含量[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2015, 3(31): 23-26.
- [6] 林清, 符小英, 马晓鹏. 正交设计优选健脾颗粒中橙皮苷的提取工艺[J]. 中国医院用药评价与分析, 2013, 13(5): 446-448.
- [7] 宋晓宁, 张志宇, 方灿, 等. 高效液相色谱法测定健胃咀嚼片中橙皮苷的含量[J]. 北方药学, 2014, 11(9): 10-11.
- =====
- (上接第612页)
- a comparative proteomic and functional analysis[J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2013, 7(5): e2185.
- [23] Wong W Y, Lee M M, Chan B D, et al. Proteomic profiling of dextran sulfate sodium-induced acute ulcerative colitis mice serum exosomes and their immunomodulatory impact on macrophages[J]. Proteomics, 2016, 16(7): 1131-1145.
- [24] Leoni G, Neumann P A, Kamaly N, et al. Annexin A1-containing extracellular vesicles and polymeric nanoparticles promote epithelial wound repair[J]. J Clin Invest, 2015, 125(3): 1215-1227.
- [25] Palanisamy V, Sharma S, Deshpande A, et al. Nanostructural and transcriptomic analyses of human saliva derived exosomes[J]. Plos One, 2010, 5(1): e8577.
- [26] Zheng X, Chen F, Zhang Q, et al. Salivary exosomal PSMA7: a promising biomarker of inflammatory bowel disease[J]. Protein & Cell, 2017, 8(9): 686-695.
- [27] Chaput N, Thery C. Exosomes: immune properties and potential clinical implementations[J]. Semin Immunopathol, 2011, 33(5): 419-440.
- [28] Robbins P D, Morelli A E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles[J]. Nat Rev Immunol, 2014, 14(3): 195-208.
- [29] Yang X, Meng S, Jiang H, et al. Exosomes derived from interleukin-10-treated dendritic cells can inhibit trinitrobenzene sulfonic acid-induced rat colitis[J]. Scand J Gastroenterol, 2010, 45(10): 1168-1177.
- [30] Paiotti A P, Neto R A, Marchi P, et al. The anti-inflammatory potential of phenolic compounds in grape juice concentrate (G8000™) on 2, 4, 6-trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis[J]. Br J Nutr, 2013, 110(6): 973-980.
- [31] Montecalvo A, Larregina A T, Shufesky W J, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes[J]. Blood, 2012, 119(3): 756-766.
- [32] Sugimoto K, Hanai H, Tozawa K, et al. Curcumin prevents and ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice [J]. Gastroenterology, 2002, 123(6): 1912-1922.
- [33] Deguchi Y, Andoh A, Inatomi O, et al. Curcumin prevents the development of dextran sulfate Sodium (DSS)-induced experimental colitis[J]. Digestive Diseases & Sciences, 2007, 52(11): 2993-2998.
- [34] Sun D, Zhuang X, Xiang X, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes[J]. Mol Ther, 2010, 18(9): 1606-1614.