

生产区对毛橘红果皮及花中柚皮苷含量的影响

★ 魏燕华^{1*} 林励² (1. 广东省广州市荔湾区芳村中医医院 广州 510361; 2. 广州中医药大学 广州 510006)

摘要:目的:研究生产区对毛橘红果皮及花中柚皮苷含量的影响规律。方法:采用 HPLC 法测定不同生产区毛橘红母树所采毛橘红果皮和花中柚皮苷含量。HPLC 法色谱条件:Kromasil ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 甲醇-水-36% 乙酸(49:51:4)为流动相,流速 1.0 ml/min;柱温室温;检测波长:283 nm。结果:毛橘红果及花中柚皮苷含量均以上天堂产区的为最高,分别为 23.83%±0.51%、13.37%±0.20%;农中区采的毛橘红果皮柚皮苷含量最低,仅为 6.42%±0.13%;大茶岭区采的毛橘红花含量最低,为 10.69%±0.17%。结论:不同生产区对毛橘红果中柚皮苷含量影响较大,花中柚皮苷含量不同生产区样品均较接近;但都以上天堂区采毛橘红质量最佳。

关键词:生产区;毛橘红;果皮;花;柚皮苷

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A

Study on the determination of naringin in Citri Grandis from different area

Wei Yan-hua¹, Lin Li²

1. Guangzhou Liwan District Hospital of TCM, Guangzhou 510361;

2. Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006

Abstract: Objective: To study the content of naringin in Citri Grandis according to different district. Methods: HPLC method was adopted to determine the quantity of naringin in the peel and flowers of Citrus grandis tomentosa trees from different product District. The HPLC condition: a Kromasil-ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used with Methanol-water-36% acetic acid (49:51:4) as mobile phase at detection wavelength of 283nm. The flow rate was 1.0ml/min and column temperature was room temperature. Results: The content of naringin in the fruits and flowers of Citri Grandis from Shang Tiantang area was the highest, Which reached 23.83%±0.51% and 13.37%±0.20%, while the lowest in the fruit was from Nongzhong area, which was only 6.42%±0.13%, and the lowest in the flowers was from Da Chaling area, which was only 10.69%±0.17%. Conclusion: The quantity of naringin in the fruits of Citri Grandis from different area varies evidently while the quantity of naringin in the flowers of Citri Grandis has no difference. The quality of Citri Grandis in Shang Tiantang area is the best.

Key words: Product District; Citri Grandis; Naringin

毛橘红为广东化州的“道地药材”,其原植物为化州柚 Citrus grandis Tomentosa,为化州市的特有树种。2005 版中国药典将柚 Citrus grandis Osbeck 果皮也列为化橘红来源之一,但其质量显著次于曾列为皇室专用祛痰圣药的化州橘红^[1,2]。黄酮类成分是化橘红的主要有效成分之一^[1],其中柚皮苷占总

黄酮含量的 70% 以上^[2]。有学者对其黄酮类成分动态变化规律等方面内容进行了深入研究,但未见同一 GAP 基地内不同生产区等生产因素与毛橘红果及花中柚皮苷含量的相关性研究报导。文章通过超声提取法对不同生产区毛橘红果及花中的柚皮苷

* 作者简介:魏燕华,主管药师。研究方向:医院药学。Tel:020-81551664。E-mail: weiyanhua70@163.com。

进行提取,并用 HPLC 法测定其含量,寻找生产区对毛橘红药材中柚皮苷含量的影响规律。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 德国 Dionex P680A 型高效液相色谱仪,带自动进样器、二极管阵列检测器及柱温箱;电子分析天平(德国 Sartorius110 型,0.1mg)。

1.2 试剂 柚皮苷对照品(批号:110722-200309)购自中国药品生物制品检定所;甲醇、硝酸铝、亚硝酸钠、氢氧化钠等试剂均为分析纯。

1.3 样品 药材均采自于广东省化州市,经广州中医药大学中药学院实验中心林励老师鉴定,其原植物为化州柚 *Citrus grandis* Tomentosa。样品见表 1。

表 1 不同生产区毛橘红样品来源

序号	样品名称	时间(烘干出炉)	采样地点
1	毛橘红幼果(干果)	2007 年 6 月	大茶岭生产区
2	毛橘红幼果(干果)	2007 年 6 月	农中生产区
3	毛橘红幼果(干果)	2007 年 6 月	田子嶂生产区
4	毛橘红幼果(干果)	2007 年 6 月	上天堂生产区
6	毛橘红干花	2007 年 3 月	大茶岭生产区
7	毛橘红干花	2007 年 3 月 12 日	农中生产区
8	毛橘红干花	2007 年 3 月	田子嶂生产区
9	毛橘红干花	2007 年 3 月 25 日	上天堂生产区

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:KromasilODS 柱(250 mm × 4.6 mm,5 mm);流动相:甲醇-水-36% 乙酸(49:51:4);流速:1.0 ml·min⁻¹;柱温:室温;检测波长:283 nm。

2.2 样品含水量测定

各样品 10 g,精密称定,按《中国药典》2005 年版一部附录 IXH 甲苯法测定水分含量。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 果皮供试品溶液的制备 取粉末(过四号筛)0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加石油醚 50 ml,超声波提取 45 min,弃去石油醚液,待样品中残存的石油醚全部挥去后,加甲醇 50 ml,精密称定,超声波提取 30 min,取出,放凉,用甲醇补足减失的重量,过滤,即得。

2.3.2 花供试品溶液的制备 取粉末(过四号筛)

1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加石油醚 100 ml,超声波提取 45 min,弃去石油醚液,待样品中残存的石油醚全部挥去后,加甲醇 50 ml,精密称定,超声波提取 30 min,取出,放凉,用甲醇补足减失的重量,过滤,即得。

2.4 对照品溶液的制备

精密称取柚皮苷 20 mg 于 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,再精密量取 30 ml 于 50 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制成对照品溶液。

2.5 线性关系考察

取柚皮苷对照品分别配成 0.0202、0.0404、0.0808、0.1212、0.1616、0.202、0.2424 mg/ml,分别进样 10 μl,按上述条件进行测定,以柚皮苷量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。求得柚皮苷的回归方程为 $y = 253.16x - 0.3559$, $r = 0.9999$,在 0.0202 ~ 0.2424 mg 范围内,柚皮苷量与色谱峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验

取柚皮苷对照品溶液进样 10 μl,按上述条件进行测定,重复 5 次,柚皮苷峰面积积分值平均为 50.83,计算 $RSD = 0.46\%$ ($n = 5$)。

2.7 重复性试验

按供试品溶液的制备项下方法,精密称取同一批号供试品 5 份,分别制备后进行含量测定,含量平均值为 43.15%,计算 $RSD = 0.83\%$ 。

2.8 稳定性试验

按供试品溶液测定项下方法,对同一份供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h 进样,柚皮苷峰面积积分值平均 73.13,计算 $RSD = 0.63\%$ 。

2.9 加样回收率试验

精密称取一定量的供试品,准确加入柚皮苷对照品,按上述方法制备供试品溶液,测定含量,计算平均加样回收率结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果($n = 6$)

柚皮苷含量/mg	柚皮苷加入量/mg	柚皮苷测得值/mg	回收率(%)	回收率(%)	RSD(%)
4.090	3.232	7.247	97.69		
4.089	3.232	7.294	99.15		
4.087	4.242	8.156	95.91	98.02	1.23
4.087	4.242	8.249	98.11		
4.092	5.050	9.103	99.22		
4.092	5.050	9.041	98.00		

2.10 样品测定

取各供试品溶液分别进样 10 ml,依法测定,外标峰面积法计算含量,即得。

3 结果

见表 3。

表 3 不同产区化州柚的柚皮苷含量测定结果($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品序号	样品名称	采样地点	柚皮苷含量(%)	RSD(%)
1	毛橘红幼果(干果)	大茶岭生产区	9.89 ± 0.08	0.81
2	毛橘红幼果(干果)	农中生产区	6.42 ± 0.13	2.02
3	毛橘红幼果(干果)	田子嶂生产区	13.36 ± 0.20	1.50
4	毛橘红幼果(干果)	上天堂生产区	23.83 ± 0.51	2.14
6	毛橘红干花	大茶岭生产区	10.69 ± 0.17	1.59
7	毛橘红干花	农中生产区	11.20 ± 0.16	1.43
8	毛橘红干花	田子嶂生产区	13.04 ± 0.45	3.45
9	毛橘红干花	上天堂生产区	13.37 ± 0.20	1.50

小承气汤证兔动物模型的研制*

★ 陈颖¹ 张喜奎^{2**} (1. 福建农林大学医院 福州 350002; 2. 福建中医学院中医系 福州 350108)

摘要:目的:研制小承气汤证兔动物模型。方法:将60只日本大耳白兔随机分为正常对照组、病理模型组、模型治疗组和模型验证组。在次碳酸铋、禁水的基础上,用适当剂量的大肠杆菌内毒素攻毒,观察家兔的体温、腹围、呼吸、二便等一般状态、检测相关的实验室指标及重要脏器的病理形态学变化。结果:采用这种多因素联合造模方法,研制出家兔的病理模型,在症状、体征、实验室指标及病理改变上符合传统中医理论的小承气汤证。可以认为该造模方法是成功的。

关键词:小承气汤证;阳明腑实证;动物模型;病理形态

中图分类号:R-332 **文献标识码:**A

动物模型的复制是现代医学研究的基本方法。它对于探明疾病的病因、发病机制及药物的研究与开发均有重要的意义。因此建立各种中医病证动物模型,已成为实现中医客观化、规范化和科学化的主要环节^[1]。小承气汤首见于东汉张仲景的《伤寒论》,泻热通腑消痞,用于阳明腑实证的治疗。我们采用多因素联合造模的方法,初步研制了该证的动物模型,现将研制结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选用健康日本大耳白兔60只,体重2.0~2.5 kg,雌雄兼用。由福建中医学院实验动

物中心代购。适应性饲养一周后进行实验。

1.2 实验药品 精制冻干大肠杆菌内毒素 E. coli O55:B5,美国 SIGMA 公司生产,批号:060915,上海西唐生物科技有限公司提供。实验前用生理盐水将内毒素配制成浓度为10 μg/ml 溶液,置于4℃冰箱内保存备用。次碳酸铋片,由河南天方药业股份有限公司生产,批号:060411650。实验前研成粉末,避光保存备用。小承气汤:大黄12 g、枳实9 g、厚朴6 g,由福建中医学院国医堂提供,剂量以上海科学技术出版社五版《方剂学》教材为依据,制成浓度为1 g生药/ml 的药液,置于4℃冰箱内保存备用。

4 讨论

本次实验采用超声波提取法处理样品只需1.5 h,比药典中方法^[3]省时,且操作简便。

实验结果显示柚皮苷含量变化,果中最高者为上天堂生产区毛橘红样品,最低为农中生产区样品;花中含量最高为天堂生产区毛橘红样品,最低的为大茶岭生产区样品。结果证实同一产地不同生产区毛橘红中柚皮苷含量有显著差异,提示生产区的小环境可显著影响毛橘红的质量;上天堂生产区毛橘红样品质量最优,提示应当对上天堂生产区的生态环境进行系统分析,找出适于培育优质毛橘红药材的影响因素。

另外,不同生产区对毛橘红果中柚皮苷含量影响较大,以上天堂采样品中最高,农中区采最低,花中柚皮苷含量不同生产区样品均较接近。但毛橘红果皮与花中柚皮苷含量总体差异不大,提示应考虑其花的开发利用。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 现代实用本草(中册)[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:103.
- [2] 黄兰珍, 梁照恒. 不同炮制方法对化橘红中柚皮苷含量的影响[J]. 中国新药与临床药理,2005,16(1):59-61.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2005年版一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:51.

(收稿日期:2009-03-04)

* 基金项目:福建省自然科学基金(2006J0111)

** 通讯作者:张喜奎(1963-),男,医学博士,教授。