

不同来源和品种化橘红果实中肌醇含量比较

张旭倩, 肖凤霞*, 邓少东, 邓超明, 邓韬, 林励

(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**考察不同来源和品种化橘红中肌醇的含量,为化橘红质量标准 and 开发利用提供科学依据。**方法:**采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法进行测定,色谱柱 Rezex RCM-Monosaccharide Ca^{2+} (8%) (Phenomenex, 7.8 mm \times 300 mm);流动相为去离子水,流速 0.40 mL \cdot min $^{-1}$,漂移管温度 80 $^{\circ}\text{C}$,喷雾管加热状态 100% 加热状态,雾化气体为空气,压力 40 bar;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。**结果:**肌醇在 0.25 ~ 8.00 g \cdot L $^{-1}$ 线性关系良好($r = 0.999\ 9$),平均回收率为 98.94%, RSD 2.19%,样品中其他成分不干扰测定。**结论:**化橘红不同栽培品种中肌醇含量差别较大,以陆福品种含量最高,在发育过程中可能呈上升趋势,广西省售化橘红与化州基地采收品含量无明显差别。

[关键词] 肌醇;化橘红;高效液相色谱-蒸发光散射;含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0055-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121107.1344.014.html>

[网络出版时间] 2012-11-7 13:44

Content Comparison of Myo-Inositol from *Citrus grandis* of Different Varieties

ZHANG Xu-qian, XIAO Feng-xia*, DENG Shao-dong, DENG Chao-ming, DENG Tao, LIN Li

(College of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To determine and compare the content of myo-inositol in *Citri Grandis*. **Method:** The content was determined by high performance liquid chromatography coupled with evaporative light-scattering detector (HPLC-ELSD) method. The operation was performed on a Rezex RCM-Monosaccharide Ca^{2+} (8%) column (7.8 mm \times 300 mm) using deionized water as the mobile phase at the flow rate of 0.4 mL \cdot min $^{-1}$. The temperature of drift tube was set at 80 $^{\circ}\text{C}$, the tube was set at heating 100% and the column temperature at 35 $^{\circ}\text{C}$, the gas pressure was 40 bar. **Result:** The calibration curve of inositol displayed ideal linearity over the range of 0.25-8.00 g \cdot L $^{-1}$ ($r = 0.999\ 9$), and the average recovery was 98.94% with RSD of 2.19%. The other ingredients in the sample showed no interference. **Conclusion:** The content of myo-inositol was different due to the different sample-variety of *C. grandis* and the sample from Lufu was the highest. And it would show a pattern of increase after pollination. But this study didnt show variations for samples from different region.

[Key words] myo-inositol; *Citrus grandis* Osbeck. var. *tomentosa* Hort; HPLC-ELSD; content determination

中药化橘红为芸香科植物化州柚和柚未成熟果实的外果皮,为理气化痰之常用中药^[1]。目前,对其化学成分的研究主要集中在黄酮类^[2-3]、多糖

类^[4-5]、挥发油等^[6-7]。本课题组前期研究发现化橘红具有较丰富的肌醇(myo-inositol)化合物^[8]。肌醇又称环己六醇,是一种水溶性维生素,能促进肝和

[收稿日期] 20120524(014)

[基金项目] 国家科技部“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI01B02);广州中医药大学科研基金项目(06C80)

[第一作者] 张旭倩,硕士,从事中药资源开发利用与新药研究, E-mail: ZXQsarah0687@163.com

[通讯作者] *肖凤霞,副研究员,博士,从事中药资源开发利用与新药研究, Tel:020-39358250, E-mail: xfx92@gzhtcm.edu.cn

其他组织中脂肪的代谢,帮助体内脂肪的再分配(重新分布)^[9-10],降低胆固醇,预防湿疹,有镇静作用;可用于脂肪肝、肝炎、早期肝硬化及动脉硬化、高脂血症等。本实验在已建立的化橘红中肌醇含量测定方法基础上进行完善,对不同品种和来源化橘红果实中肌醇进行含量测定,以为化橘红药材质量评价体系、品质评定提供理论基础,便于临床进一步采购、开发和使用。

1 材料

1.1 仪器 Waters 600 型高效液相色谱仪(Alltech ELSD 2000 检测器、Millennium32 工作站), Rezex RCM-Monosaccharide-Ca²⁺ (8%) (Phenomenex, 300 mm × 7.8 mm) 色谱柱, BP211D 型电子天平(sartorius, d = 0.1 mg), XS 225A 型分析天平(瑞士, d = 0.0001 g), KQ-500 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率 500 W, 频率 40 kHz), EYELA 型旋转蒸发仪(AC230V, 50 Hz, 35 VA, 日本)。

1.2 试剂与药材 化橘红药材分别来源于 2007 年和 2010 年 4 月采自化州市化橘红 GAP 种植基地以及 2011 年 11 月采购于广西省玉林药材市场,经广州中医药大学中药学院林励研究员鉴定为芸香科植物化州柚或柚的干燥未成熟果实。肌醇对照品(批号 1907329, sigma 公司)。液相用水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

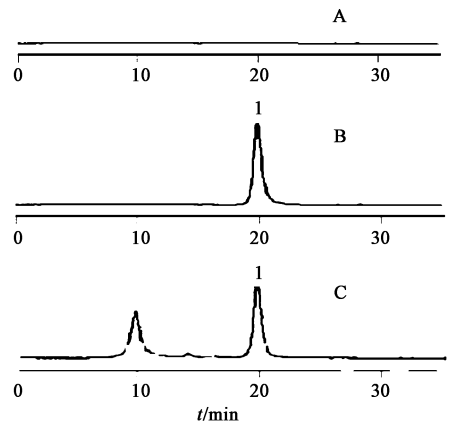
2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Rezex RCM-Monosaccharide Ca²⁺ (8%) (Phenomenex, 7.8 mm × 300 mm), 流动相为去离子水,流速 0.40 mL · min⁻¹, 漂移管温度 80 °C, 雾化气体为空气,压力 40 bar, 柱温 35 °C, 进样量 20 μL。

2.2 系统适应性试验 分别精密吸取对照品贮备液和供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样分析。结果肌醇峰与其他峰的分离度 > 1.5, 理论塔板数以肌醇峰计,应不小于 5 000,见图 1。

2.3 对照品贮备液的制备 取干燥至恒重的肌醇对照品适量,精密称定,加去离子水适量溶解,制成质量浓度为 10.0 g · L⁻¹ 的肌醇对照品贮备液。

2.4 供试品溶液的制备 取化橘红粗粉 1 g,加 80% (体积分数,下同)乙醇 20 mL,浸泡 30 min,加热回流 45 min,趁热滤过,滤渣再加 80% 乙醇 16 mL 热回流提取 30 min,合并 2 次滤液,旋转蒸发仪减压回收乙醇至干,加去离子水定容至 10 mL,4 °C 静置过夜,滤过除去结晶,少量去离子水冲洗滤渣,滤液



1. 肌醇
图 1 空白(A)、肌醇对照品(B)和化橘红样品(C)的 HPLC-ELSD

浓缩至干,残渣加甲醇超声提取,甲醇不溶物加水溶解并定容至 10 mL 量瓶中,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.5 线性关系的考察 分别精密吸取对照品贮备液 0.50, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加去离子水至刻度,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得肌醇对照品液。精密吸取各对照品溶液 20 μL,每个浓度平行进样 3 次,记录色谱图,测定肌醇峰面积。以肌醇质量浓度的自然对数为横坐标,峰面积积分值的自然对数为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 1.077 1X + 1.957$ ($r = 0.999 9$)。肌醇在 0.25 ~ 8.00 g · L⁻¹ 其自然对数值与峰面积的自然对数值线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取 2.0 g · L⁻¹ 肌醇对照品溶液 20 μL,连续进样 6 次,记录肌醇色谱峰峰面积。结果峰面积 RSD 1.34%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取化橘红样品约 1.0 g,精密称定,共 6 份,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,依法测定。结果 6 份样品肌醇 RSD 2.40%,表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样分析,记录肌醇色谱峰峰面积。结果峰面积 RSD 2.29%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的化橘红样品 9 份,每份 0.5 g,精密称定。分别加入一定量的肌醇对照品贮备液,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,依法测定,见表 1。

表1 肌醇加样回收率试验

称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
500.6	9.21	7.20	16.33	98.83	98.94	2.19
500.7	9.22		16.36	99.27		
500.2	9.21		16.33	98.89		
500.4	9.21	9.00	18.20	99.91		
500.0	9.20		17.87	96.33		
500.3	9.21		18.52	103.58		
500.0	9.20	10.80	19.58	96.10		
500.2	9.21		19.93	99.33		
500.1	9.21		19.82	98.23		

2.10 样品含量测定 取干燥至恒重的样品适量按2.4项下方法制备供试品溶液,依法测定。结果见表2。

表2 不同品种和来源化橘红中肌醇含量($n=3$) %

No.	来源	品种	肌醇
1	化州 GAP 基地	正毛化橘红 陆福	2.45
2	(2010-04)	正毛化橘红 黄绒果	2.20
3		正毛化橘红 金钱脐	1.38
4		正毛化橘红 凤尾	1.21
5		正毛化橘红 假西洋	1.50
6		正毛化橘红 大茶岭	1.38
7		正毛化橘红	1.88
8	广西玉林市场	附毛化橘红	1.40
9	(2011-11)	光青橘红	1.60
10		正毛化橘红 ¹⁾	2.33
11		正毛化橘红 ²⁾	1.88
12		正毛化橘红 橘红胎 ³⁾	0.82
13		正毛化橘红 橘红胎 ⁴⁾	0.49

注: ¹⁾直径为 53.06 ~ 54.60 mm, ²⁾直径为 39.80 ~ 45.10 mm, ³⁾直径为 15.70 ~ 17.76 mm, ⁴⁾直径为 9.22 ~ 11.02 mm。

3 讨论

因市售化橘红多以果实形式销售,故本实验以果实为实验对象进行肌醇含量测定。

化橘红果实不同栽培品种中肌醇含量差别较大,由高到低为陆福 > 黄绒果 > 假夕阳 > 金钱脐 = 大茶岭 > 凤尾。赵红英等^[11]研究显示,不同品种化橘红果实中柚皮苷含量由高到低为凤尾 > 大茶岭 > 金钱脐 > 假西洋 > 陆福 > 黄绒果,总黄酮含量由高到低为大茶岭 > 凤尾 > 黄绒果 > 金钱脐 > 假西洋 > 陆福。所测样品总黄酮含量与柚皮苷含量在很大程度上具有负相关性,但是并不是绝对的负相关。

化橘红原药材采收主要分两类,一为幼果,可制

成质量最优的(毛)橘红胎;二是近成熟果,可制成毛橘红。由于受化橘红采收期限限制,本实验中仅对不同果龄的市售正毛化橘红药材中肌醇含量进行测定,实验结果显示,肌醇含量随化橘红果龄增大而增大,即化橘红果实中肌醇含量在发育过程中可能呈上升趋势。

除市售橘红胎外,采自化州基地的化橘红与市售化橘红中肌醇平均含量差别不大,不同品种和不同来源化橘红中活性成分——肌醇含量分布范围在 1.21% ~ 2.45%,提示化橘红可作为提取天然肌醇的原料,同时也为化橘红开发成具有肌醇样作用的制剂提供依据。

采用 Alltech ELSD 2000 检测器进行检测,并对流动相流速、飘逸管温度、雾化器温度、气流压力、柱温等因素对肌醇峰面积和基线噪音影响的进行考察,实验表明,流速 $0.40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,飘移管温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$,雾化器加热状态 100%,雾化气体为空气,压力 40 bar,柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时,分离效果最佳。

[参考文献]

- [1] 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,2010:69.
- [2] 汪兰芳,方优妮,韩建伟,等. 正交试验优选橘红贴膏的乙醇渗漉提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(6):38.
- [3] 杜勇,李琰,张小茜. 蜜制橘红痰咳胶囊质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(10):14.
- [4] 董宏坡,江明树,朱伟杰,等. 化橘红多糖对小鼠的免疫调节作用[J]. 中成药,2010,32(3):491.
- [5] 马超,江明树. 化橘红多糖的提取工艺优化[J]. 中国民族民间医药,2009:10.
- [6] 林海丹,苏薇薇. 化橘红的研究进展[J]. 中药材, 2001,24(8):608.
- [7] 林励. 毛橘红总黄酮及其提取方法和用途[P],CN1676159.
- [8] 陈地灵,陈振兴,林励,等. HPLC-ELSD 法测定化橘红中肌醇含量[J]. 广东药学院学报,2011,27(4):1.
- [9] 江洪. 三磷酸肌醇的制备及其生物活性的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2005.
- [10] 郭会灿,王素娟,郭英. 肌醇的研究进展[J]. 河北化工, 2008,31(7):5.
- [11] 赵红英,文海涛,林励. 化州柚不同栽培品种总黄酮及柚皮苷含量的比较研究[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(2):183.

[责任编辑 顾雪竹]