

## 不同批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量比较及质量评价

王元清<sup>1,2</sup>, 严建业<sup>1</sup>, 师白梅<sup>1</sup>, 李顺祥<sup>1\*</sup>, 罗堃<sup>1</sup>, 王璐<sup>1</sup>, 黄海卫<sup>3</sup>

(1. 湖南中医药大学药学院 中药现代化教育厅重点实验室, 长沙 410208;

2. 中南林业科技大学生命科学与技术学院 生物技术与工程实验室, 长沙 410004;

3. 长沙市第三医院药剂科, 长沙 410007)

**[摘要]** 目的: 比较不同批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量, 并评价其质量。方法: 高效液相色谱法, 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 乙腈-水 (20:80) (磷酸调 pH 至 3.0); 检测波长 283 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 测定柚皮苷和新橙皮苷; 以柚皮苷为对照, 采用紫外-可见分光光度法在 283 nm 处测定总黄酮; 采用水蒸气蒸馏法提取测定挥发油含量; 以柚皮苷含量、新橙皮苷含量、总黄酮含量、挥发油含量为综合评价指标, 采用 Topsis 法评价其质量。结果: 柚皮苷含量范围在 0% ~ 6.12%, 新橙皮苷含量在 0% ~ 4.55%, 总黄酮含量在 6.96% ~ 18.99%, 挥发油含量在 0.2% ~ 2.0% (mL·g<sup>-1</sup>); 17 个批次样品质量差异较大。结论: 17 批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量有较大差异; 柚皮苷、新橙皮苷含量达到 2010 年版《中国药典》标准的仅 6 批, 质量评价方法可行。

**[关键词]** 枳壳; 柚皮苷; 新橙皮苷; 总黄酮; 挥发油; 质量评价

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0146-05

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120215.1250.002 **[网络出版时间]** 2012-02-15 12:50

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120215.1250.002.html>

## Comparison of Content of Naringin, Neohesperidin, Total Flavonoid and Volatile Oil in Different Batches of *Citrus aurantium* and Quality Evaluation

WANG Yuan-qing<sup>1,2</sup>, YAN Jian-ye<sup>1</sup>, SHI Bai-mei<sup>1</sup>, LI Shun-xiang<sup>1\*</sup>, LUO Kun<sup>1</sup>, WANG Lu<sup>1</sup>, HUANG Hai-wei<sup>3</sup>

(1. Key Lab of Modernization of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine,

Changsha 410208, China; 2. Lab of Biotechnology and Engineering, College of Life Science and

Technology, Central South University of Forestry and Techology, Changsha 410004, China;

3. Department of Pharmacy, Third Hospital of Changsha, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the content of naringin, neohesperidin, total flavonoids and volatile oil in different batches of *Citrus aurantium* and evaluate the quality. **Method:** The naringin and neohesperidin were detected by HPLC. The analytical column was a Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). A mixture of acetonitrile-water (pH was adjusted to 3.0 by phosphoric acid) (20:80) was used as the mobile phase with the flow rate at 1 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 283 nm. The column temperature was set at 30 ℃. The UV spectrophotometry for the determination of total flavonoids is as follows: detection wavelength was at 283

**[收稿日期]** 20111101(010)

**[基金项目]** 湖南省科技厅项目(2009TP4051-1); 长沙市科技计划项目(k1003034-31); 湖南省高校“中药新药创制与资源综合持续利用”科技创新团队项目(湘教通[2010]212号); 国家中医药管理局“药用植物学”重点学科项目; 湖南省“中药学”重点学科项目

**[第一作者]** 王元清, 博士, 讲师, 从事生物药物的教学和科研工作, Tel:0731-85623496, E-mail:wangyuanqing201@126.com

**[通讯作者]** \*李顺祥, 博士, 教授, 研究员, 博士生导师, 从事中药有效成分与资源研究, Tel:0731-88458229, E-mail:lishunxg@yahoo.com.cn

nm, and the reference substance was naringin. The volatile oil was extracted by steam distillation. Topsis was employed for evaluating quality with the content of naringin, neohesperidin, total flavonoids and volatile oil. **Result:** The naringin, neohesperidin, total flavonoids and volatile oil were in the ranges of 0%-6.12%, 0%-4.55%, 6.96%-18.99% and 0.2%-2.0% ( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ) respectively. The quality difference of the samples was large. **Conclusion:** The content difference of the naringin, neohesperidin, total flavonoids and volatile oil in 17 different batches of *C. aurantium* was large. The content of naringin and neohesperidin in 6 batches of *C. aurantium* comes up with *<Chinese Pharmacopoeia 2010>*. The quality evaluation method was feasible.

[**Key words**] *Citrus aurantium*; naringin; neohesperidin; total flavonoids; volatile oil; quality evaluation

枳壳是芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实<sup>[1]</sup>,主产于四川、江西、湖南、福建等地<sup>[2]</sup>。其活性成分主要有挥发油、黄酮类、生物碱类等,挥发油中的右旋柠檬烯具有镇痛作用,黄酮具有抗氧化、抗变态反应等药理活性<sup>[3-5]</sup>,枳壳黄酮中柚皮苷、新橙皮苷等成分均具有抗炎、抗过敏等作用<sup>[6]</sup>。为进一步控制枳壳药材质量,合理开发利用枳壳药材中的活性成分与有效部位,课题组对不同批次的枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量同时进行测定与比较分析,并采用 Topsis 法评价各批次的质量差异。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1200 LC (安捷伦科技有限公司), Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), FW135 型粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); T-214 型电子分析天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司), SP-756 型紫外,可见分光光度仪 (北京东南仪诚实验室设备有限公司)。

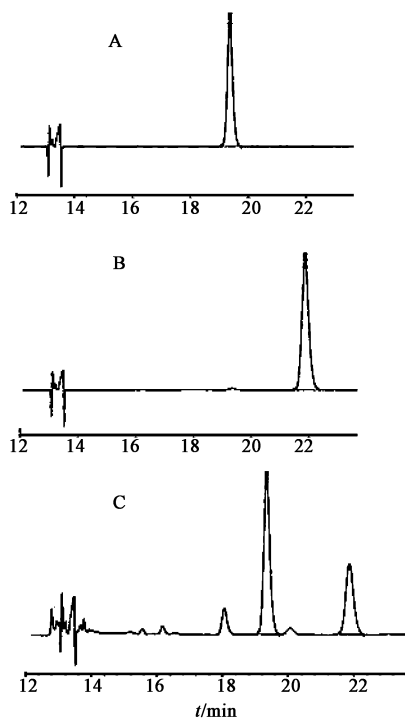
柚皮苷 (110722-200610, 供含量测定用, 中国药品生物制品检定所), 新橙皮苷 (111610-200604, 供含量测定用, 南昌贝塔生物科技有限公司), 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。枳壳购于各大药店、医院和药材市场。

## 2 方法与结果

### 2.1 柚皮苷与新橙皮苷的含量测定<sup>[7-8]</sup>

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱 Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 (20:80) (磷酸调 pH 至 3.0), 检测波长 283 nm, 流速 1 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C。对照品及样品的色谱图见图 1。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取柚皮苷对照品 0.006 4 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解, 并定容至刻度, 摇匀。精密移取 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得 (每 1 mL 含柚皮苷 0.064 mg)。



A. 柚皮苷; B. 新橙皮苷; C. 枳壳样品

图 1 枳壳的 HPLC

精密称取新橙皮苷对照品 0.004 4 g, 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解, 定容至刻度, 摇匀。精密移取 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得 (每 1 mL 含新橙皮苷 0.088 mg)。

**2.1.3 供试品溶液的制备与测定** 取粗粉约 0.2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流提取 1.5 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 10 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪, 测定其峰面积积分值, 按外标一点法计算含量。测定结果见表 1。

表 1 不同批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量比较

No.	样品来源	样品规格	柚皮苷 /%	新橙皮苷 /%	总黄酮 /%	挥发油 /mL·100 g <sup>-1</sup>
1	长沙佰佳饮片公司	原药材	4.52	2.24	11.16	1.4
2	江西樟树临江镇敬一堂	原药材	3.09	1.64	6.96	0.6
3	江西樟树玉达药材站	原药材	0	0	9.48	0.8
4	长沙东塘药店	原药材	3.92	3.63	12.12	1.5
5	益阳汉森制药	原药材	5.81	3.22	13.84	2.0
6	四川成都药材市场	生饮片	4.67	2.76	10.61	0.2
7	长沙芝林大药房	生饮片	0	0	18.99	0.3
8	邵东廉桥药材市场	生饮片	0	0	16.62	0.4
9	广东省普宁药材市场	生饮片	3.81	2.26	15.21	0.8
10	安徽海鑫中药饮片有限公司	生饮片	0	0	12.86	0.7
11	广西玉林药材市场	生饮片	0	0	17.51	0.4
12	湖南省中医药研究院-附属医院	麸炒枳壳	4.83	3.14	14.88	1.3
13	湖南中医药大学第二附属医院	麸炒枳壳	5.72	3.81	14.75	1.3
14	湖南中医药大学第一附属医院	麸炒枳壳	6.12	4.55	17.11	1.4
15	湖南省妇幼保健院	麸炒枳壳	3.45	2.92	9.77	1.1
16	长沙老百姓大药房	麸炒枳壳	5.45	3.1	14.57	1.3
17	广东清平药材市场	麸炒枳壳	2.56	0	9.91	1.2

## 2.2 枳壳总黄酮的含量测定<sup>[9-10]</sup>

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取 2.1.2 项下的柚皮苷(0.064 g·L<sup>-1</sup>)对照品溶液 1.6 mL 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(10.24 mg·L<sup>-1</sup>)。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取粗粉约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 25 mL,称定质量,超声 0.5 h,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液 0.5 mL 置于 50 mL 量瓶中,加稀乙醇稀释定容至刻度,摇匀,即得。

**2.2.3 测定波长的选择** 取上述对照品溶液和供试品溶液,以相应溶剂为空白分别进行光谱扫描(200~700 nm),结果表明,对照品溶液和供试品溶液均在 283 nm 处有最大吸收,故测定波长选择 283 nm。

**2.2.4 线性关系考察** 分别精密移取 2.1.2 项下的柚皮苷(0.064 g·L<sup>-1</sup>)对照品溶液 0.8,1.2,1.6,2.0,2.4 mL 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至定容刻度,摇匀,即得。以甲醇为空白对照,在 283 nm 处测定吸光值。以吸光值为纵坐标,以柚皮苷质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为  $Y = 31.738X + 0.0184$

( $R^2 = 0.9996$ )。结果表明柚皮苷在 0.00512 ~ 0.01536 g·L<sup>-1</sup> 具有良好的线性关系。

**2.2.5 精密度试验** 取同一样品溶液连续测定 6 次,结果 RSD 1.2%,表明仪器精密度较好。

**2.2.6 稳定性试验** 取样品溶液在 0,2,4,8,16,24 h 分别测定吸光值,结果 RSD 1.6%,表明样品在 24 h 内稳定。

**2.2.7 重复性试验** 取同一批枳壳药材粗粉,平行取 6 份,按 2.2.2 方法制备供试品溶液,测定含量,结果 RSD 2.49%,表明实验方法的重复性较好。

**2.2.8 加样回收率试验** 精密称取枳壳粗粉 0.1 g,共 6 份,分别精密加入一定量柚皮苷对照品,按 2.2.2 方法制备供试品溶液,测定含量,结果平均回收率为 100.3%,RSD 1.98%。

**2.2.9 样品测定** 精密称取不同批次枳壳样品粗粉 0.2 g,按 2.2.2 的方法制备供试品溶液,在 283 nm 处测定吸光值,计算总黄酮含量,结果见表 1。

**2.3 枳壳挥发油的含量测定<sup>[1]</sup>** 称取 100 g 枳壳粗粉置于挥发油提取器中,按 2010 年版《中国药典》附录 XD 甲法测定,结果见表 1。

**2.4 统计分析** 采用 Topsis 综合评价法分析各批次枳壳的质量,结果见表 2~3。

表 2 不同批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的变换矩阵

No.	$x_1$ (柚皮苷)	$x_2$ (新橙皮苷)	$x_3$ (总黄酮)	$x_4$ (挥发油)
N1	0.845 71	0.649 06	0.395 08	0.618 87
N2	0.578 15	0.475 21	0.246 39	0.265 23
N3	0	0	0.335 60	0.353 64
N4	0.733 45	1.051 83	0.429 06	0.663 07
N5	1.087 07	0.933 03	0.489 95	0.884 10
N6	0.873 77	0.799 74	0.375 61	0.088 41
N7	0	0	0.672 27	0.132 61
N8	0	0	0.588 37	0.176 82
N9	0.712 86	0.654 86	0.538 45	0.353 64
N10	0	0	0.455 26	0.309 43
N11	0	0	0.619 88	0.176 82
N12	0.903 71	0.909 85	0.526 77	0.574 66
N13	1.070 23	1.103 99	0.522 17	0.574 66
N14	1.145 07	1.318 41	0.605 71	0.618 87
N15	0.645 51	0.846 10	0.345 87	0.486 25
N16	1.019 71	0.898 26	0.515 80	0.574 66
N17	0.478 98	0	0.350 83	0.530 46
最优向量	1.145 07	1.318 41	0.672 27	0.884 10
最劣向量	0	0	0.246 39	0.088 41

表 3 不同样品的排序指标

No.	样品来源	最优值 D+	最劣值 D-	相对逼近程度 CI	名次
1	长沙佰佳饮片公司	0.827 54	1.2	0.591 85	7
2	江西樟树临江镇敬一堂	1.263 63	0.768 99	0.378 32	11
3	江西樟树玉达药材站	1.855 84	0.279 83	0.131 03	17
4	长沙东塘药店	0.590 34	1.417	0.705 91	5
5	益阳汉森制药	0.430 26	1.656 72	0.793 84	3
6	四川成都药材市场	1.031 38	1.191 54	0.536 02	9
7	长沙芝林大药房	1.901 09	0.428 16	0.183 82	13
8	邵东廉桥药材市场	1.885 92	0.353 22	0.157 75	15
9	广东省普宁药材市场	0.962 5	1.045 3	0.520 62	10
10	安徽海鑫中药饮片有限公司	1.851 14	0.304 1	0.141 1	16
11	广西玉林药材市场	1.884 78	0.383 8	0.169 18	14
12	湖南省中医药研究院-附属医院	0.584 89	1.399 85	0.705 31	6
13	湖南中医药大学第二附属医院	0.412 14	1.636 06	0.798 78	2
14	湖南中医药大学第一附属医院	0.273 45	1.860 08	0.871 83	1
15	湖南省妇幼保健院	0.858 75	1.140 5	0.570 46	8
16	长沙老百姓大药房	0.559	1.468 23	0.724 26	4
17	广东清平药材市场	1.552 5	0.660 11	0.298 34	12

由表 1 可知,柚皮苷含量范围在 0% ~ 6.12% , 新橙皮苷含量在 0% ~ 4.55% ,总黄酮含量在 6.96% ~ 18.99% ,挥发油量在 0.2% ~ 2.0% (mL·g<sup>-1</sup>);根据文献报道[3-6],柚皮苷、新橙皮苷等黄

酮类成分与挥发油类成分均具有较强的药理作用,均为枳壳的药效物质,因此可以以这 4 个药效指标的含量来评价各批次枳壳的质量。由表 3 可知,各批次枳壳的质量经 Topsis 分析法获得有效评价。

### 3 讨论

枳壳挥发油提取时,药材粉碎成粗粉后提取率较高,提取时间在 5 h 后油量基本上不再增加。2010 年《中国药典》版规定枳壳原药材、枳壳生饮片与麸炒枳壳的含量要求相同,柚皮苷含量要求为不小于 4%,新橙皮苷含量要求为不小于 3%。从所测不同批次、不同规格的枳壳结果来看,柚皮苷含量范围在 0% ~ 6.12%,新橙皮苷含量在 0% ~ 4.55%,有 1 批次枳壳检测到柚皮苷而未检测到新橙皮苷,有 5 批次枳壳两者都未检测到,同时能符合药典要求的批次只有 6 批。可见,市场上能达到药典标准的枳壳很少。据文献[11]报道,枳壳中黄酮类成分主要是橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷和芸香柚皮苷,研究中发现 5 批次枳壳样品中未检测到柚皮苷与新橙皮苷而总黄酮含量不少,可能由于这 5 个批次枳壳中橙皮苷与芸香柚皮苷含量较高而导致总黄酮的量较高。

枳壳中 4 种黄酮类成分随枳壳的成长而变化,且随着枳壳成熟程度的增加,橙皮苷和芸香柚皮苷的含量显著下降,而柚皮苷和新橙皮苷的含量则上升,总黄酮的含量亦有下降的趋势<sup>[11]</sup>。但随着成熟程度的进一步增加,果瓢迅速增大,果皮变薄,品质下降,柚皮苷和新橙皮苷的含量下降<sup>[12]</sup>。另外,也有研究表明枳壳不同品种间黄酮类成分含量差异也较大<sup>[12]</sup>。因此本研究发现有的批次未检测到柚皮苷与新橙皮苷或含量较低的原因可能与枳壳的采收时期与品种有关。

从挥发油测定结果看,麸炒枳壳中的挥发油较生饮片高的趋势,这与文献报道“枳壳经过麸炒后,果皮组织变得疏松、油室破裂,增加了挥发油、黄酮的溶出率<sup>[13-14]</sup>”相一致,也在一定程度上为“欲制其燥性,助其消导,可炒黑用之”,“炒后利气较速”的论述提供了实验依据。

Topsis 法是多指标综合评价方法之一,已应用

于中药质量的研究中<sup>[15-16]</sup>,本研究对各批次枳壳的质量经 Topsis 分析法获得有效评价。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010;229.
- [2] 江苏新医学院.中药大辞典(上)[M].上海:上海人民出版社,1993.
- [3] 黄加龙,杨武尧,周道根.枳壳研究概况[J].食品与药品,2006,8(11A):1.
- [4] 潘隽丽,杨翠平,苏薇薇.枳壳类药材的研究概况[J].中药材,2003,26(10):468.
- [5] 胡盛珊,王大元,邱萍.枳实有效成分的药理活性比较[J].中草药,1994,25(8):419.
- [6] 冯宝民,蒋革,贾景明,等.柚皮苷和新橙皮苷抗过敏作用的研究[J].大连大学学报,2005,26(4):63.
- [7] 张金莲,何敏,谢一辉,等.高效液相色谱法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):68.
- [8] 王淳,吕署一,宋志前,等.高分离度快速液相色谱法测定不同产地枳实中主要黄酮类成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(6):1.
- [9] 周林,陈彦琳,杜杰,等.UV 测定麸炒枳壳中总黄酮含量[J].中国现代中药,2009,11(10):20.
- [10] 涂华,陈碧琼,张燕军.天然类黄酮物质的提取工艺研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):277.
- [11] 王青,袁丹.不同产地枳实与枳壳中黄酮类成分的含量测定[J].黑龙江医药,2008,21(3):1.
- [12] 杨武亮,付丽,聂清林.江枳壳采收期的研究[J].江西中医学院学报,2008,20(5):50.
- [13] 朱正义.枳壳麸炒前后黄酮苷的分析比较[J].中药材,1994,17(6):30.
- [14] 谌瑞林,何行真,龚千峰.枳壳不同炮制方法对其挥发油的影响[J].江西中医学院学报,2004,16(1):44.
- [15] 彭锐.川党参药材质量化学成分多指标综合评价研究[J].世界科学技术——中医药现代化,2009,11(2):274.
- [16] 孙延芳.酸枣果质量评价及其三萜活性研究与应用[D].咸阳:西北农林科技大学,2010.

[责任编辑 邹晓翠]