

枸橘生药学特征研究

兰金旭， 郭晓凯， 练从龙， 王锴乐， 陈随清*
(河南中医药大学，河南 郑州 450046)

摘要：目的 研究枸橘的生药学特征。**方法** 采用性状鉴别、显微鉴别、薄层鉴别进行定性鉴别，按 2015 年版《中国药典》附录中的方法对水分、总灰分和浸出物进行检查，HPLC 检测柚皮苷、新橙皮苷含量。**结果** 药材性状、显微鉴别特征明显；16 批样品的薄层色谱斑点清晰；水分 8.52%~12.12%，总灰分 3.01%~5.37%，浸出物 12.59%~16.84%，柚皮苷 3.24%~7.60%，新橙皮苷 1.28%~2.31%。**结论** 该方法准确稳定，重复性好，可为枸橘质量标准制定提供依据。

关键词：枸橘；性状；柚皮苷；新橙皮苷

中图分类号：R282.6 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2021)09-2586-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.09.060

枸橘为芸香科植物枳 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. 的干燥未成熟果实。性温，味苦、辛，无毒；具有舒肝止痛、破气散结、消食化滞、除痰镇咳的功效，中医临床常用于理气。唐宋以前作枳实用^[1-3]，现代仅福建、广东等地作枳壳和枳实用^[4]。1991 年版《河南省中药材标准》称其为豫香橼，含有黄酮、香豆素、生物碱、挥发油等成分^[5-7]，其中柚皮苷和新橙皮苷可促进小鼠小肠推进^[8]，枳属苷可抗炎^[9]、抗幽门螺旋杆菌^[10]和保护胃黏膜^[11]。枸橘在全国大部分地方都有栽培，但果实多废弃，造成了资源浪费。本实验对枸橘进行了生药学研究，以期为药材质量标准的制定提供参考。

1 材料

BX53 型正置荧光显微镜（日本 Olympus 公司）；SP-30E 型全自动薄层色谱点样仪（北京市永光明医疗器械有限公司）；沃特世 e2695 高效液相色谱仪（美国沃特世公司）。甲醇、磷酸、乙醇（天津市致远化学试剂有限公司）；甲醇、乙腈（美国赛默飞世尔科技有限公司）；双蒸水（实验室制备）。新橙皮苷、柚皮苷（成都曼斯特生物科技有限公司，批号 MUST-18040707 和 MUST-18050808）。药材收集于河南、甘肃、安徽等地，共 16 批，经河南中医药大学陈随清教授鉴定为芸香科植物枳 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. 的干燥果实。具体信息见表 1。

表 1 样品信息

编号	收集地	外果皮颜色	中果皮颜色	种子	收集日期
1	贵州安顺一批	棕褐色	黄白色	黄白色,较小,长圆形,数量多	2018.11.08
2	山西晋城	黄棕色	黄白色	黄白色,较大,椭圆形,数量较多	2019.01.17
3	河南禹州	棕黄色	黄白色	黄白色,较大,椭圆形,数量较多	2019.01.06
4	安徽亳州一批	棕黄色	黄色	黄白色,较小,圆形,数量多	2019.01.05
5	甘肃文县一批	黄棕色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量多	2018.10.29
6	陕西西乡一批	棕褐色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量多	2018.10.29
7	贵州安顺二批	褐色	黄褐色	黄白色,较小,圆形,数量较多	2019.01.19
8	陕西西乡二批	黄棕色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量较多	2018.12.19
9	安徽亳州二批	棕褐色	黄白色	黄白色,较大,椭圆形,数量多	2018.12.09
10	甘肃文县二批	黄棕色	黄白色	黄白色,较小,圆形,数量较多	2109.01.09
11	云南富民	黄棕色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量多	2109.01.17
12	贵州安顺三批	棕褐色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量多	2018.11.08
13	安徽亳州	棕黄色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量多	2019.01.05
14	安徽凤阳	棕黄色	黄白色	黄白色,较大,椭圆形,数量多	2018.12.29
15	广西桂林	棕褐色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量较多	2019.01.10
16	安徽亳州三批	棕黄色	黄白色	黄白色,较大,长圆形,数量较多	2019.01.17

收稿日期：2020-01-15

基金项目：中央本级重大增减支项目（2060302）；2018 年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目”（财社〔2017〕183）；河南省中药材产业技术体系（豫财预〔2019〕82）；河南中医药大学博士科研基金项目（BSJJ2020-07）

作者简介：兰金旭（1982—），男，博士，讲师，从事中药资源调查与利用研究。E-mail: ianjx@163.com

* **通信作者：**陈随清（1965—），男，博士，教授，从事中药品种整理与质量标准研究。Tel: (0371) 65676686, E-mail: suiqingchen0371@163.com

2 方法与结果

2.1 性状鉴别 呈圆形厚片状，直径 2~4 cm。外果皮棕黄色至褐色，有颗粒状突起，突起的顶端有凹点状油室，果梗痕明显。切面中果皮黄白色，光滑而稍隆起，厚 0.1~0.5 cm，具有 5~10 瓣瓢瓣；内含多数种子，种子黄白色，长 0.5~1.0 cm；质坚硬，气清香，微苦，酸，涩，见图 1。不同产地性状略有差别，贵州安顺、广西桂林药材外果皮

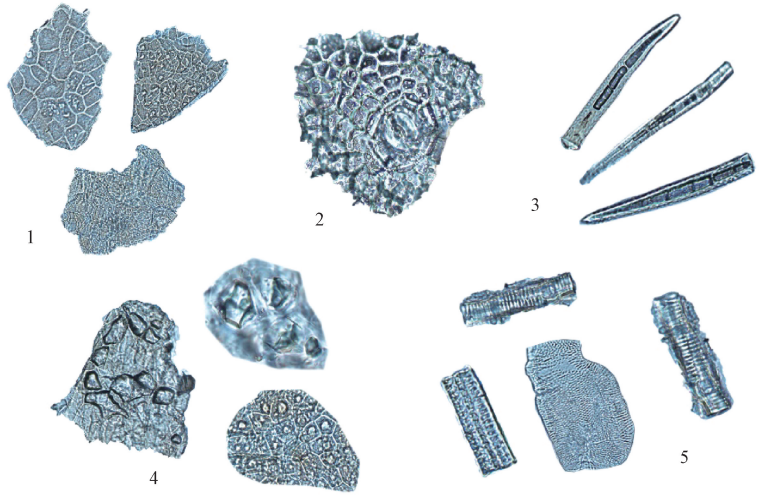
颜色呈棕褐色或褐色，颜色较深；山西晋城、甘肃文县、云南富民药材外果皮颜色呈黄棕色；河南禹州、安徽凤阳药材外果皮呈棕黄色；安徽亳州药材外果皮颜色兼有棕黄色和棕褐色；陕西西乡药材外果皮颜色兼有棕褐色和黄棕色。中果皮颜色以黄白色为主，仅贵州安顺 2 批为黄褐色。种子大小差别较小。



图 1 枸橘药材性状鉴别图（甘肃文县）

2.2 显微鉴别 粉末黄白色或棕黄色。取少量粉末制成水合氯醛透化片，可观察到瓢囊细胞类圆形，细胞中多含草酸钙晶体；气孔环式，类圆形，副卫细胞 5~9 个；非腺毛

单细胞，长 100~300 μm，壁厚，光滑，基部稍弯曲；草酸钙方晶成行排列，散在晶体较多；导管多为螺纹，网纹。见图 2。

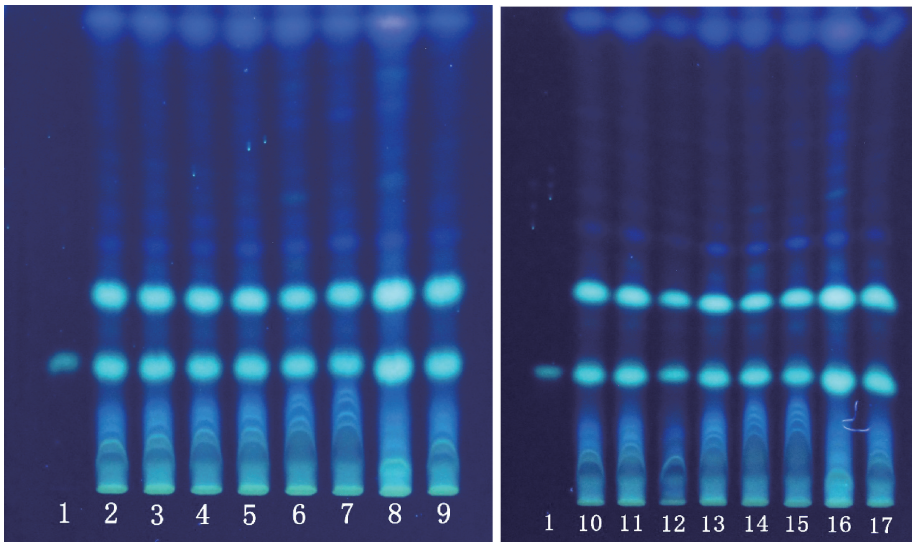


1. 瓢囊细胞 2. 气孔 3. 非腺毛 4. 草酸钙结晶 5. 导管

图 2 枸橘药材显微鉴别图

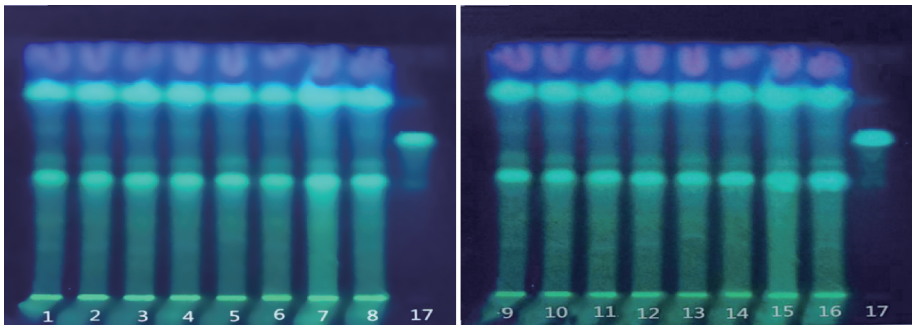
2.3 薄层鉴别 药材粉末加入 80% 乙醇（1：10）60 ℃ 水浴提取 40 min，放冷补足减失质量后过滤蒸干，残渣加入 80% 乙醇溶解作为供试品溶液^[12]。另取柚皮苷、新橙皮苷加入 80% 乙醇制备成 0.5 mg/mL 对照品溶液。取柚皮苷溶液、各样品溶液 2 μL 点在同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（13：6：2）为展开剂，晾干后喷洒 10% 三氯化铝乙醇溶液，置于 365 nm 紫外灯下检视。取新橙皮苷溶

液、各样品溶液 2 μL 点在同一聚酰胺膜薄层板上，以氯仿-甲醇-丙酮（15：3.5：1.5）为展开剂，晾干后喷洒 10% 三氯化铝乙醇溶液，置于 365 nm 紫外灯下检视^[13]。结果发现薄层色谱上柚皮苷斑点、新橙皮苷斑点明显，供试品色谱与对照品色谱位置相同，所有点均能完全分开，见图 3~4。



1. 柚皮苷对照品 2. 贵州安顺（第 1 批） 3. 山西晋城 4. 河南禹州 5. 安徽亳州（第 1 批） 6. 甘肃文县（第 1 批） 7. 陕西西乡（第 1 批） 8. 贵州安顺（第 2 批） 9. 陕西西乡（第 2 批） 10. 安徽亳州（第 2 批） 11. 甘肃文县（第 2 批） 12. 云南富民 13. 贵州安顺（第 3 批） 14. 安徽亳州 15. 安徽凤阳 16. 广西桂林 17. 安徽亳州（第 3 批）

图 3 柚皮苷 TLC 色谱图



1. 贵州安顺（第 1 批） 2. 山西晋城 3. 河南禹州 4. 安徽亳州（第 1 批） 5. 甘肃文县（第 1 批） 6. 陕西西乡（第 1 批） 7. 贵州安顺（第 2 批） 8. 陕西西乡（第 2 批） 9. 安徽亳州（第 2 批） 10. 甘肃文县（第 2 批） 11. 云南富民 12. 贵州安顺（第 3 批） 13. 安徽亳州 14. 安徽凤阳 15. 广西桂林 16. 安徽亳州（第 3 批） 17. 新橙皮苷对照品

图 4 新橙皮苷 TLC 色谱图

2.4 水分、灰分、浸出物检查 参考 2015 年版《中国药典》^[14] 四部中通则 0832 烘干法、通则 2302、通则 2201 项热浸法进行水分、灰分和浸出物测定，16 批不同产地枸橼药材含水量 8.52%~12.12%，平均值 10.81%；总灰分含量 3.37%~6.02%，平均值 4.10%；浸出物含量 12.59%~16.84%，平均值 14.80%。见表 2。

2.5 样品含量测定

2.5.1 色谱条件 安捷伦 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈-0.1% 磷酸（20:80）；检测波长 283 nm。

2.5.2 对照品溶液制备 用甲醇溶解新橙皮苷、柚皮苷对照品，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得（柚皮苷、新橙皮苷质量浓度分别为 385、306 mg/mL）。

2.5.3 供试品溶液制备 精密称取药材粉末，加入甲醇

2588

（1:25），75℃水浴回流 1.5 h，放冷，补足减失质量，滤过，精密量取滤液 10 mL，置于 25 mL 量瓶中定容，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取 0.038 5、0.077 0、0.115 5、0.154 0、0.192 5 mg/mL 柚皮苷对照品溶液各 10 μL，以其色谱峰峰面积为纵坐标（Y），进样量为横坐标（X）进行回归，得方程为 $Y = 2 \times 10^6 X + 54\,834$ （ $r = 0.999\,6$ ）。

精密吸取 0.030 6、0.061 2、0.091 8、0.122 4、0.153 0 mg/mL 新橙皮苷对照品溶液各 10 μL，以其色谱峰峰面积为纵坐标（Y），进样量为横坐标（X）进行回归，得方程为 $Y = 279.36X - 2\,010.3$ （ $r = 0.999\,1$ ）。

2.5.5 稳定性试验 精密称取同一药材粉末 2.0 g，按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、8、12、

表 2 水分、总灰分、浸出物、各成分含量测定结果（%）

编号	水分	总灰分	浸出物	柚皮苷	新橙皮苷
1	10.52	4.57	14.53	3.61	1.85
2	10.73	3.80	15.52	4.48	1.89
3	10.52	3.88	14.16	4.60	2.02
4	11.05	3.77	15.55	4.87	1.93
5	12.07	4.42	14.93	4.61	2.31
6	12.12	3.91	12.66	3.24	1.76
7	8.52	5.05	16.84	7.60	1.77
8	10.50	3.82	15.31	5.00	2.07
9	11.63	4.32	13.88	4.96	1.97
10	10.35	3.83	15.25	4.55	1.84
11	12.04	3.99	15.70	6.14	1.91
12	10.59	3.37	14.68	4.10	1.38
13	10.31	3.54	12.59	4.01	1.41
14	10.54	3.86	15.21	5.49	1.28
15	10.54	3.42	15.13	4.34	1.58
16	10.84	6.02	14.81	5.24	1.69

24 h 在“2.5.1”项条件下进样 10 μL，各测定 6 次，测得柚皮苷、新橙皮苷峰面积 RSD 分别为 1.29%、2.62%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.6 精密度试验 按“2.5.2”项下方法制备对照品溶液，在“2.5.1”项条件下进样 6 次，每次 10 μL，测得柚皮苷、新橙皮苷峰面积 RSD 分别为 0.51%、0.50%，表明仪器精密度良好。

2.5.7 重复性试验 精密称取同一药材粉末 6 份，每份

2.0 g，按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.1”项条件下进样，测得柚皮苷、新橙皮苷峰面积 RSD 分别为 1.54%、2.92%，表明该方法重复性良好。

2.5.8 加样回收率试验 精密称取同一药材粉末 6 份（含柚皮苷 3.23%、新橙皮苷 1.65%），每份 2.0 g，加入 100% 水平对照品，按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.1”项条件下进样，计算回收率，结果见表 3。

表 3 各成分加样回收率试验结果（n=6）

成分	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
柚皮苷	0.100 6	3.621 6	3.60	7.227 6	100.17	99.90	0.66
	0.099 8	3.592 8	3.59	7.185 8	100.08		
	0.100 6	3.621 6	3.62	7.229 9	99.68		
	0.100 5	3.618 0	3.57	7.208 8	100.58		
	0.100 5	3.618 0	3.64	7.210 1	98.68		
	0.099 8	3.592 8	3.59	7.189 4	100.10		
橙皮苷	0.100 6	1.267 5	1.24	2.534 6	102.19	100.04	1.22
	0.099 8	1.257 5	1.26	2.514 6	99.77		
	0.100 6	1.267 5	1.27	2.527 4	99.20		
	0.100 5	1.266 3	1.25	2.517 9	100.13		
	0.100 5	1.266 3	1.28	2.528 7	98.63		
	0.099 8	1.257 5	1.26	2.521 3	100.30		

2.5.9 样品含量测定 16 批药材中柚皮苷含量为 3.61% ~ 7.60%，平均值为 4.8%，其中 2 批低于 4%，10 批为 4% ~ 5%，3 批为 5% ~ 6%，仅有 1 批高于 6%；新橙皮苷含量为 1.28% ~ 2.31%，平均值为 1.79%，其中 3 批超过 2%，13 批为 1.28% ~ 1.97%。

3 讨论

枸橘作为地方药材使用广泛，尚未建立明确质量标准。

本研究可为枸橘鉴别和质量标准的制订建立提供参考。

参考文献：

[1] 叶橘泉. 枳实枳壳古今演变的初步考证[J]. 江苏中医药, 1957(5)：19-20.
[2] 蓝晓庆, 高伟城, 潘 馨. 绿衣枳实的化学成分及药理活性研究进展[J]. 海峡药学, 2009, 21(9)：9-12.

[3]

中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 167-168.

[4]

蔡逸平, 陈有根, 范崔生. 中药枳壳、枳实类原植物调查及商品药材的鉴定[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(5): 259-262.

[5]

裴莉昕, 纪宝玉, 陈随清, 等. 枸橘药材的本草考证及质量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21): 39-44.

[6]

宋玉鹏, 陈海芳, 谭舒舒, 等. 不同采收期江枳壳中柚皮素和橙皮素 HPLC 含量测定[J]. 井冈山大学学报 (自然科学版), 2017, 38(1): 83-87.

[7]

李 煌, 张梦云. 不同采收期绿衣枳壳中柚皮苷的含量测定[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(7): 43-44.

[8]

付小梅, 吴志瑰, 褚小兰, 等. 枳壳中黄酮类成分的研究[J]. 中药材, 2006, 29(11): 1187-1188.

[9]

孙 静, 李 俊, 黄 艳, 等. 橙皮苷对酒精性脂肪肝大鼠脂质过氧化及 TNF- α 生成的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(9): 913-917.

[10]

易徐航, 夏放高, 陈海芳, 等. 枳壳中黄酮苷类成分对正常小鼠小肠推进的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 278-280.

[11]

滕建业. 枳壳促进胃动力化学物质组的筛选及作用机理研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.

[12]

刘学仁. 柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的提取与分析研究[D]. 黄石: 湖北师范学院, 2011.

[13]

皮 达, 谭舒舒, 罗小泉, 等. 陈皮、枳壳和化橘红中黄酮苷类成分的薄层鉴别[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(9): 2184-2187.

[14]

国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

基于偏最小二乘回归法分析诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”的谱效关系

王 巍, 张 强, 杜春洁, 鞠成国*
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: **目的** 基于偏最小二乘回归法研究诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”的谱效关系。**方法** 采用 DSS 诱导小鼠溃疡性结肠炎模型, ELISA 法检测肺、肠组织 IL-10、IL-1 β 、TNF- α 、MPO 水平。采用 HPLC 法建立诃子色谱指纹图谱, 以偏最小二乘回归分析法研究谱效相关性。**结果** 10 批样品特征指纹图谱中有 32 个共有峰, 其中峰 1、8、9、10、19、20、27、32 与结肠和肺均呈正相关, 峰 2 与结肠呈较大正相关, 峰 7、14、30 与肺呈较大正相关, 峰 3、12、13、15、26 与结肠和肺均呈较大负相关。**结论** 12 种与药效指标呈正相关的成分为诃子对溃疡性结肠炎“肺肠同治”的主要有效成分, 为诃子治疗溃疡性结肠炎的药效物质及作用机制研究提供基础。

关键词: 诃子; 溃疡性结肠炎; 肺肠同治; 偏最小二乘回归法; 谱效关系

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)09-2590-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.09.061

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性肠道炎症性疾病, 临床主要表现为黏液脓血便、腹泻、腹痛及里急后重等, 与中医“肠澼”相对应。其病因至今尚不完全清楚, 目前认为主要与饮食和生活方式不规律以致肠道菌群失调、黏液和上皮屏障功能缺陷有关^[1]。现代临床治疗多以水杨酸类、糖皮质激素以及免疫抑制剂等药物联用, 但存在疗效不稳定、肝肾毒性、药物依赖性问题^[2], 因此寻找安全有效的中医药疗法成为当务之急。中医理论认为本病病位在大肠, 病在血分, 气血凝滞, 病久及肺^[3],

因此目前从肺肠合法论治溃疡性结肠炎研究较多^[4]。诃子收载于《中国药典》2020 年版一部, 为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 及绒毛诃子 *Terminalia chebula*Retz. var. *tomentella* Kurt. 的干燥成熟果实, 其味苦、酸、涩, 性平, 归肺、大肠经, 具有涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽的功效^[5]。由于诃子主归肺与大肠经, 传统医学常用其治疗“肠澼”, 本课题组前期对其治疗溃疡性结肠炎的药效学进行研究, 结果表明诃子水提物可显著改善溃疡性结肠炎模型动物症状。本实验在前期研究基础上, 建

收稿日期: 2020-07-09

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目 (2019-ZD-0951); 辽宁省教育厅项目 (L201725)

作者简介: 王 巍 (1979—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药质量评价及新药开发。Tel: 15940997065, E-mail: ww_101737@126.com

* 通信作者: 鞠成国 (1979—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药炮制工艺与原理。Tel: (0411)85890146, E-mail: jcg7092357@163.com