

表 3 菟丝子 5 种成分含量测定结果($\bar{x} \pm s$, mg·g⁻¹, n=2)

Table 3 Content of five content of Semen Cuscutae

编号	绿原酸	金丝桃苷	异槲皮苷	紫云英苷	山奈酚
S1	2.324 ± 0.016	3.839 ± 0.019	0.842 ± 0.029	6.174 ± 0.012	1.238 ± 0.002
S2	1.269 ± 0.008	2.466 ± 0.028	0.485 ± 0.017	2.177 ± 0.017	0.631 ± 0.007
S3	0.955 ± 0.006	1.724 ± 0.021	0.306 ± 0.005	1.698 ± 0.031	2.044 ± 0.014
S4	0.529 ± 0.004	1.798 ± 0.027	0.198 ± 0.003	1.321 ± 0.026	0.757 ± 0.012
S5	0.768 ± 0.007	1.608 ± 0.013	0.315 ± 0.018	1.972 ± 0.045	2.853 ± 0.024
S6	1.414 ± 0.041	2.898 ± 0.021	0.458 ± 0.012	1.154 ± 0.085	0.611 ± 0.028
S7	0.949 ± 0.029	1.854 ± 0.015	0.360 ± 0.005	1.411 ± 0.054	0.664 ± 0.016

40, 50, 60, 80 min 等不同超声处理时间进行了筛选,发现超声 60 min 后提取较完全,确定采用 80 % 甲醇超声处理 60 min 的提取方法。

根据绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、紫云英苷及黄酮苷元山奈酚等 5 种成分的极性差异,流动相选择了乙腈-0.1 % 磷酸的梯度洗脱系统,色谱分离度符合方法学要求。绿原酸检测波长采用 327 nm^[1],4 种黄酮类成分的检测波长采用 360 nm^[1]。

2010 版《中华人民共和国药典》规定了菟丝子的金丝桃苷含量测定方法;胡丽萍等^[9]建立了菟丝子中 5 种成分(绿原酸、金丝桃苷、槲皮苷、山奈酚及异鼠李素)的含量测定方法;肖岚等^[10]也建立 5 种成分(绿原酸、金丝桃苷、槲皮素、山奈酚及异鼠李素)的含量测定方法。本实验通过对多种流动相系统条件下的对照品保留时间定位、样品加对照品保留时间定位、光谱分析等试验方法,未在菟丝子色谱图中发现槲皮苷的峰,而保留时间相近的位置则为紫云英苷

峰,紫云英苷含量较高,此结果与化学成分研究文献^[2-3]报道菟丝子中紫云英苷含量较高的结果相一致。异槲皮苷是紫云英苷的同分异构体^[7],研究还发现菟丝子中含一定量的异槲皮苷。此外,本研究也对黄酮苷元(槲皮素及异鼠李素)进行了含量考察,结果槲皮素及异鼠李素的含量明显低于山奈酚的含量。因此,本研究确定了绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、紫云英苷、山奈酚含量测定作为菟丝子质量控制指标。

通过 7 批样品含量发现,金丝桃苷、紫云英苷的含量相对较高,紫云英苷、山奈酚的含量差异较大。本研究建立的 HPLC 方法重复性较好,为菟丝子的质量控制提供一定依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 290-291, 205-206.
[2] 李建平, 王静, 张跃文, 等. 菟丝子的研究进展[J]. 中国医药导报, 2009, 6(23): 5-6.
[3] 高佃华. 菟丝子化学成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2009.
[4] 王焕江, 赵金娟, 刘金贤, 等. 菟丝子的药理作用及其开发前景[J]. 中医药学报, 2012, 40(6): 123-125.
[5] 胡丽萍, 王跃飞, 宋殿荣, 等. HPLC-UV-MS 法同时测定菟丝子中 5 种成分的含量[J]. 中药材, 2010, 33(8): 1277-1279.
[6] 肖岚, 杨梓懿, 石继连. HPLC 同时测定菟丝子不同炮制品中 5 种主要活性成分含量[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(7): 50-53.
[7] 王燕, 王先荣, 马凤余, 等. 金丝桃苷在植物中的分布及其含量测定[J]. 安徽医药, 2009, 13(11): 1312-1315.

(编辑: 修春)

广东英德引种广佛手与道地产地广佛手质量的比较研究

祁龙凯¹, 林 励¹, 汪金玉¹, 蔡丹燕¹, 周智勇², 廖伟星²(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广东祥丰农林科技有限公司, 广东 英德 513000)

摘要: **目的** 评价广东英德引种广佛手的质量。**方法** 选取广东英德与传统道地产地的广佛手样品, 采用高效液相色谱(HPLC)法测定其橙皮苷和 5, 7-二甲氧基香豆素的含量, 色谱柱为 Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相分别为甲醇-水-冰醋酸(33: 63: 2)和甲醇-水(65: 35), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长分别为 284 nm 和 326 nm。**结果** 英德产广佛手符合《中国药典》标准, 且橙皮苷和 5, 7-二甲氧基香豆素的平均含量均高于广佛手道地产区。**结论** 广东英德产广佛手橙皮苷含量符合 2010 版《中国

收稿日期: 2013-07-15

作者简介: 祁龙凯, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源开发与新药研究。Email: 371605700@qq.com。通讯作者: 林励, 男, 研究员, 主要从事中药资源开发与新药研究。Email: LL76611@126.com。

药典》规定, 研究结果初步显示在英德引种广佛手是可行的。

关键词: 广佛手; 引种; 质量; 橙皮苷; 5, 7-二甲氧基香豆素

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0067-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.018

Comparative Study on Quality of Fructus Citri Sarcodactylis Introduced in Yingde and from Traditional Original Place in Guangdong

QI Longkai¹, LIN Li¹, WANG Jinyu¹, CAI Danyan¹, ZHOU Zhiyong², LIAO Weixing¹ (1. School of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangdong Xiangfeng Forestry Science and Technology Co., Ltd, Yingde 513000 Guangdong, China)

Abstract: Objective To evaluate the quality of Fructus Citri Sarcodactylis introduced in Yingde of Guangdong province. **Methods** Samples of Fructus Citri Sarcodactylis introduced in Yingde and from traditional original place of Guangdong were used for the determination of hesperidin and 5, 7-dimethoxycoumarin content by using high performance liquid chromatography (HPLC). The chromatographic column was Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), mobile phase consisted of methanol - water - acetic acid or methanol - water, flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength was set at 284 nm and 326 nm. **Results** The quality of Fructus Citri Sarcodactylis introduced in Yingde met the pharmacopoeia standard, and the contents of hesperidin and 5, 7-dimethoxycoumarin were higher than the average levels in Fructus Citri Sarcodactylis from traditional original place. **Conclusion** Hesperidin content in Fructus Citri Sarcodactylis introduced in Yingde meets the requirement of the 2010 version of Chinese Pharmacopoeia, indicating that introduction of Fructus Citri Sarcodactylis in Yingde is feasible.

Keywords: Fructus Citri Sarcodactylis; Introduction; Quality; Hesperidin; 5, 7-dimethoxy coumarin

广佛手系芸香科植物佛手 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle 的干燥成熟果实, 为我国传统中药, 味辛、苦、酸、温, 归肝、脾、胃、肺经。具有疏肝理气, 和胃止痛, 燥湿化痰等功效。常用于治疗肝胃气滞所致胸胁胀痛, 胃脘痞满, 食少呕吐, 咳嗽痰多^[1]。广佛手主要含以橙皮苷为代表的黄酮类成分和以 5, 7-二甲氧基香豆素为代表的香豆素类成分^[2-5], 主产于化州、德庆武垄、高要悦城、云浮、郁南等广东西南部地区, 栽培历史悠久, 为广东道地药材。英德市位于广东省中北部, 与广佛手传统道地产地比较气候相对寒冷, 未曾有过引种广佛手的记录。2010 年, 广东祥丰农林科技有限公司在英德市引种了千亩广佛手, 2012 年开始挂果, 果实长势良好。笔者对英德引种广佛手与传统道地产区进行了质量比较, 以期广佛手北移广东中北部地区提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 2965 HPLC 系统(Waters Corporation, Milford, MA, 美国): 四元泵, 在线真空脱气系统,

自动进样器, 柱温箱, DAD 检测器, Empower3 工作站; KQ-500 型超声波清洗器, 中国昆山市超声仪器有限公司; BP211D 电子分析天平, d=0.01 mg, 德国 Sartorius 公司。

1.2 试剂 橙皮苷, 成都植标化纯生物技术有限公司, 批号: 120316, 纯度 ≥ 98 %, 5, 7-二甲基氧基香豆素, 天津希恩思生化科技有限公司, 批号: D-59430, 纯度 ≥ 98 %; 甲醇, 色谱纯, 德国默克公司, 批号: 603-001-00-X; 冰乙酸, 优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司, 批号: 20110513; 水为双蒸水; 其余所用试剂皆为分析纯。广佛手经广州中医药大学中药学院林励研究员鉴定为芸香科柑橘属植物 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Noot.) Swingle 成熟果实。采集地及时间情况见表 1。

2 方法与结果

2.1 橙皮苷的含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-

表 1 广佛手样品信息

序号	样品来源	样品采集年份	产地
1	亳州	2012	肇庆高要
2	肇庆	2012	肇庆四会市
3	肇庆	2012	高要市回龙镇
4	基地晒制	2012	英德市浛洸镇
5	实验室烘制	2012	英德市浛洸镇
6	实验室烘制	2012	英德市浛洸镇
7	实验室烘制	2013	英德市浛洸镇

冰醋酸(33 : 63 : 2); 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 284 nm; 理论板数按橙皮苷峰计算不低于 5000。

2.1.2 橙皮苷对照品溶液的制备 精密称取经干燥至恒定质量的橙皮苷对照品 2.02 mg, 置于 10 mL 的量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成浓度为 0.2020 mg·mL⁻¹ 的对照品母液, 精密吸取 1.0 mL 对照品母液, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 制成浓度为 0.0202 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取干燥至恒质量的本品粉末(过 5 号筛)1.0 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 30 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 线性关系的考察 取对照品溶液, 分别进样 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0, 16.0 μL, 以相对含量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得橙皮苷回归方程为 $Y=1603599X+453$, $r=0.9997$, 结果表明在 0.1212~0.3232 μg 范围内, 橙皮苷含量与色谱峰峰面积值呈良好的线性关系。

2.1.5 方法学考察 精密度考察结果为 350505.7±3650.45, RSD 为 1.04 %($n=6$), 表明仪器精密度良好; 重复性考察结果为 130114.2±2168.51, RSD 为 1.65 %($n=6$), 表明重复性较好; 稳定性考察结果为 354039.8±8468.28, RSD 为 2.39 %($n=6$), 说明供试品溶液均在 8 h 内稳定; 加样回收率试验结果见表 2。

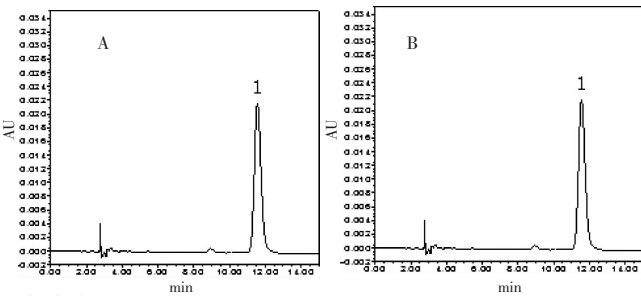
2.2 5, 7-二甲氧基香豆素含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo BDS HYPERSIL C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(65 : 35)为; 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 326 nm。

2.2.2 5, 7-二甲氧基香豆素对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒质量的 5, 7-二甲氧基香豆素 5.10

表 2 橙皮苷加样回收率试验结果

编号	样品量 /g	橙皮苷含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.5008	0.199	0.250	0.427	94.9	96.5	2.42
2	0.5038	0.201	0.250	0.434	96.3		
3	0.5022	0.200	0.250	0.435	96.7		
4	0.4997	0.199	0.250	0.424	94.3		
5	0.5012	0.200	0.250	0.454	100.9		
6	0.5024	0.200	0.250	0.432	96.0		



1. 橙皮苷

图 1 橙皮苷对照品(A)与供试品(B)色谱图

Figure 1 Chromatograms of hesperidin reference and sample

mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 制成母液, 再吸取 1.0 mL 母液, 移至 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 制成浓度为 0.0102 mg·mL⁻¹ 的对照品试液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 称取烘至恒质量的广佛手粉末 0.2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声 20 min, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 取对照品溶液, 分别进样 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0, 16.0 μL, 以相对含量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得 5, 7-二甲氧基香豆素回归方程为 $Y=4734934X-5054$, $r=0.9998$, 结果表明在 0.0606~0.1616 μg 范围内, 5, 7-二甲氧基香豆素含量与色谱峰峰面积值呈良好的线性关系。

2.2.5 方法学考察 精密度考察结果为 497360.3±5856.28, RSD 为 1.18 %($n=6$), 表明仪器精密度良好; 重复性考察结果为 500046.3±747431, RSD 为 1.49 %($n=6$), 表明重复性较好; 稳定性考察结果为 734033.8±10071.51, RSD 为 1.25 %($n=6$), 说明供试品溶液均在 8 h 内稳定; 加样回收率试验结果见表 3。

2.3 结果 按外标一点法计算样品中橙皮苷和 5, 7-二甲氧基香豆素的含量, 结果见表 4。

表 3 5, 7 二甲氧基香豆素加样回收率试验结果

Table 3 Results of recovery test of 5, 7-dimethoxy coumarin

编号	样品量 /g	5,7 二甲氧基香豆素含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.1038	0.110	0.097	0.194	93.5	96.4	2.18
2	0.1008	0.107	0.097	0.199	97.5		
3	0.1040	0.111	0.097	0.198	95.1		
4	0.1012	0.108	0.097	0.204	99.7		
5	0.1024	0.109	0.097	0.199	96.4		
6	0.1052	0.112	0.097	0.201	96.2		

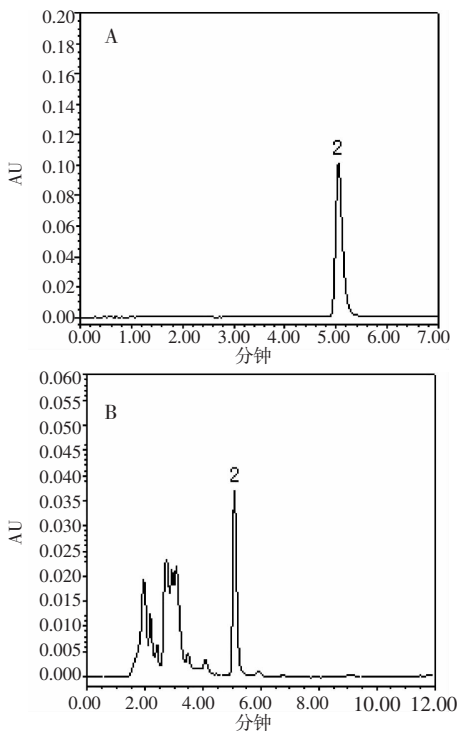


图 2 5, 7-二甲氧基香豆素对照品(A)与供试品(B)色谱图
Figure 2 Chromatograms of 5,7-dimethoxy coumarin reference and sample

表 4 橙皮苷和 5, 7-二甲氧基香豆素的含量测定结果
($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=3$)

Table 4 Comparison of hesperidin and 5, 7-dimethoxy coumarin in different samples

序号	橙皮苷	5, 7-二甲氧基香豆素
1	0.4471 ± 0.0166	1.0064 ± 0.0116
2	0.4000 ± 0.0183	0.6764 ± 0.0125
3	0.2445 ± 0.0044	1.0399 ± 0.0185
4	0.3686 ± 0.0067	1.5372 ± 0.0158
5	0.6615 ± 0.0052	1.0795 ± 0.128
6	0.8758 ± 0.0072	1.0773 ± 0.107
7	0.6504 ± 0.0043	0.9543 ± 0.113

表 4 显示, 橙皮苷含量以英德产广佛手(6 号)为最高, 达 $0.8758 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 最低者为高要市回龙镇产(3 号), 为 $0.2445 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。5, 7-二甲氧基香豆素含量以英德产广佛手(4 号)为最高达 $1.5372 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 肇庆四

会市产佛手(2 号)为最低, 为 $0.6764 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

广佛手广泛种植于广西、广东的化州、德庆、高要、肇庆等地, 其纬度多处在北纬 21 度到 23.1 度之间, 而英德广佛手 GAP 基地处于北纬 24.3 度, 在北回归线附近, 附近多丘陵, 冬季可出现霜冻, 先前尚无种植广佛手的记录及其质量报告。本研究首次对北移至英德的广佛手进行观察, 结果显示, 广东英德引种广佛手主要有效成分橙皮苷和 5, 7-二甲氧基香豆素含量与传统道地产区无明显差异。英德引种广佛手橙皮苷含量在 0.036 % 以上, 符合 2010 版《中国药典》规定值(不得低 0.030 %), 且其 5, 7-二甲氧基香豆素含量高于传统道地产区。研究结果初步表明, 在广东英德引种广佛手是可行的。

基地晒制和实验室烘制的广佛手中橙皮苷和 5, 7-二甲氧基香豆素含量存在较大差异, 初步分析可能与干制的处理方式不同有一定的关系, 也有可能是由于采收批次不同引起的含量差异。因此, 后续应对其干制的方式和不同采收期与有效成分含量变化的关系进行研究。

高要回龙镇产广佛手橙皮苷含量低于《中国药典》标准, 我们连续测定两批本样品, 结果均一致。该批广佛手为库存尾货, 储存期较长, 橙皮苷含量偏低可能与此有关。

不同的栽培环境对药用植物遗传特性的影响有所不同, 英德引种的广佛手也可能出现引种后缓慢变异的现象。因此, 今后应连续多年采集英德广佛手样品, 并增加采样频率、增大样本量、增加不同产地色谱指纹图谱等比较指标, 进行系统观察测定, 以便科学系统地评价广东英德引种广佛手的质量, 为优质广佛手的异地引种提供科学依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 167.
[2] 宋剑锋, 富同义. RP-HPLC 法测定佛手饮片中橙皮苷含量[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(5): 1036-1037.
[3] 傅国强, 王少军, 钱星文, 等. RP-HPLC 法测定枳实药材中橙皮苷含量[J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(2): 62-63.
[4] 高幼衡, 刁远明, 彭新生, 等. HPLC 法测定广佛手中 5, 7-二甲氧基香豆素的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(7): 250.
[5] 林乐维, 蒋林, 郝大庆, 等. 不同采收期广佛手中 5, 7-二甲氧基香豆素的含量测定[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 22(6): 15-17.

(编辑: 宋威)