

## 成熟度对江西单叶蔓荆子质量的影响

罗文华<sup>1,2</sup>, 李志强<sup>3</sup>, 张金莲<sup>1\*</sup>, 余书琦<sup>4</sup>, 谢日健<sup>1</sup>

(1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 江中药业股份有限公司, 南昌 330004;  
3. 景德镇市第二人民医院, 江西景德镇 333000; 4. 景德镇市第一人民医院, 江西景德镇 333000)

**[摘要]** **目的:**比较不同成熟度单叶蔓荆子中挥发性成分、总黄酮及蔓荆子黄素含量的差异。**方法:**采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分离鉴定蔓荆子中挥发性成分,利用峰面积归一化法计算各成分的相对质量分数,结合紫外分光光度法和HPLC分别测定蔓荆子中总黄酮和蔓荆子黄素的含量。**结果:**厚田黄果和黑果分别鉴定了35,36种化合物,二者相同成分有30种;都昌黄果和黑果分别鉴定了31,27种化合物,两者相同成分有23种。不同成熟度蔓荆子挥发油成分种类相似,但各成分的含量却存在很大差异。厚田黄果、厚田黑果、都昌黄果及都昌黑果中蔓荆子黄素质量分数分别为0.268%,0.209%,0.226%,0.242%,总黄酮质量分数依次为7.902%,3.540%,3.982%,2.617%。**结论:**不同样品中总黄酮含量存在很大差异,黄果与黑果中蔓荆子黄素的含量不存在显著性差异。成熟度对蔓荆子的品质影响很大。

**[关键词]** 蔓荆子;成熟度;挥发性成分;总黄酮;蔓荆子黄素

**[中图分类号]** R282.4;R284.1;R284.2;R931.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)16-0023-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015160023

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150702.1012.006.html>

**[网络出版时间]** 2015-07-02 10:12

**Effect of Maturity on Quality of Viticis Fructus from Jiangxi** LUO Wen-hua<sup>1,2</sup>, LI Zhi-qiang<sup>3</sup>, ZHANG Jin-lian<sup>1\*</sup>, YU Shu-qi<sup>4</sup>, XIE Ri-jian<sup>1</sup> (1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Jiangzhong Pharmaceutical Co. Ltd., Nanchang 330004, China; 3. Jingdezhen Municipal Second People's Hospital, Jingdezhen 333000, China; 4. Jingdezhen Municipal First People's Hospital, Jingdezhen 333000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare difference in contents of volatile components, total flavonoids and vitexicarpin of Viticis Fructus with different maturity levels. **Method:** Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to separate and identify volatile components in Viticis Fructus. Area normalization method was applied to calculate relative mass fractions of all components. In addition, ultraviolet spectrophotometry and HPLC were combined to measure contents of total flavonoids and vitexicarpin. **Result:** Houtian's yellow fruits and black fruits showed 35 and 36 compounds respectively, including 30 identical compounds. Duchang's yellow fruits and black fruits showed 31 and 27 compounds respectively, including 23 identical compounds. Viticis Fructus with different maturity degrees contained similar types of volatile oil, but with a great difference in their contents. The mass fraction for vitexicarpin in Houtian's yellow fruits and black fruits, Duchang's yellow fruits and black fruits were 0.268%, 0.209%, 0.226%, 0.242%, the mass fraction of total flavonoids were 7.902%, 3.540%, 3.982%, 2.617%, respectively. **Conclusion:** Different samples show a great difference in the content of total flavonoids, but with no significant difference in vitexicarpin content between yellow fruits and black fruits, suggesting a big effect of maturity on quality of Viticis Fructus. This study provides a reference for rational harvesting and utilization of Viticis Fructus.

**[收稿日期]** 20141112(003)

**[基金项目]** 江西省卫生厅中医药科研计划项目(2013Z003);江西中医药大学地道药材及特色中药资源研究专项(江西地道及特色中药材的中药产品15)

**[第一作者]** 罗文华, 硕士, 副主任中药师, 从事中药制造与质量研究, Tel:0791-83797091, E-mail:173059288@qq.com

**[通讯作者]** \*张金莲, 硕士, 教授, 从事中药学教学研究, Tel:0791-87118995, E-mail:jxjzjl@163.com

[Key words] Vitis Fructus; maturity degree; volatile components; total flavonoids; vitexicarpin

蔓荆子为传统常用中药,始载于《神农本草经》<sup>[1]</sup>,名为蔓荆实,列为上品,具有疏散风热、清利头目、止痛的功效。主要分布于我国的江西、山东、浙江、安徽和福建等地,其中以江西为道地产区。蔓荆子分批成熟于9~11月<sup>[2]</sup>,故同一产区,甚至同一植株上的蔓荆子成熟程度也不尽相同。2010年版《中国药典》仅规定蔓荆子为秋季果实成熟时采摘,除去杂质,晒干<sup>[3]</sup>。对其成熟度没有明确标示,相关报道<sup>[4-5]</sup>也集中于对产地、采收期等方面的研究,未见对成熟度方面的相关研究报道。本实验以江西产的不同成熟度单叶蔓荆子为研究对象,比较其挥发性成分、总黄酮及蔓荆子黄素含量的差异,为该药材的质量控制研究提供参考。

### 1 材料

6890N型气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司),2WAJ型阿贝折射仪(上海索光光电技术有限公司),Hanon p810型全自动旋光仪(济南海能仪器股份有限公司),UltiMate 3000型高效液相色谱仪(美国戴安公司),UV-2550型紫外分光光度计(日本岛津仪器公司),BS124型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),YF-111型二两装高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司),SZ-93型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂),GZX-9146MBE型数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司)。

蔓荆子黄素对照品(中国食品药品检定研究院,批号111554-200503),芦丁对照品(四川维克奇生物科技有限公司,批号140225,纯度≥98%),水为超纯水,试剂均为分析纯。蔓荆子于2013年9月采自江西新建县厚田沙漠和江西都昌县,经江西中医药大学中药资源学科组赖学文副教授鉴定为马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* var. *simplicifolia* 的成熟果实。

### 2 方法与结果

**2.1 挥发油提取及得油率** 根据2010年版《中国药典》一部附录X D<sup>[3]</sup>挥发油测定法甲法操作。分别将不同成熟度的蔓荆子捣碎,称取300g,置于圆底烧瓶中,加5倍量水及数粒玻璃珠,振摇均匀,浸泡2h后进行挥发油提取,回流6h,收集挥发油,测定体积并计算含量,结果见表1。

#### 2.2 挥发油物理常数测定

**2.2.1 比重测定(毛细管法)**<sup>[6]</sup> 取一恒重的毛细

表1 单叶蔓荆子中挥发油含量及其物理常数测定(n=3)

Table 1 Content and physical constants of volatile oil in Vitis Fructus (n=3)

样品	水分 /%	质量分数 /%	比重 /g·mL <sup>-1</sup>	折光率	旋光度 /度	性状
厚田黄果	52.49	0.421	0.932	1.485	-46.5	橘黄色
厚田黑果	20.43	0.243	0.952	1.457	-20.9	浅黄色
都昌黄果	56.86	0.350	0.828	1.506	-45.9	橘黄色
都昌黑果	32.94	0.347	0.864	1.482	-37.0	金黄色

管,用微量进样器注入一定体积挥发油,根据  $\gamma = (G_1 - G_0)/V$  计算比重( $\gamma$ ),式中  $G_1$  为加油后毛细管质量,  $G_0$  为加油前毛细管质量,  $V$  为注入挥发油的体积。结果见表1。

**2.2.2 折光率测定**<sup>[3]</sup> 利用2WAJ型阿贝折射仪,参照2010年版《中国药典》一部VII F进行测定(温度为室温,光源为自然光),结果见表1。

**2.2.3 旋光度测定**<sup>[3]</sup> 以无水乙醇为溶剂将挥发油配成质量分数0.2%的溶液,参照2010年版《中国药典》一部附录VII E进行测定,结果见表1。

**2.3 GC-MS测定** 色谱条件为HP-5MS弹性石英毛细管柱(30 m × 250  $\mu$ m, 0.25  $\mu$ m),载气为氦气,流速1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量1  $\mu$ L,进样口温度250  $^{\circ}$ C,进样方式分流进样,分流比20:1,恒流模式,传输线温度280  $^{\circ}$ C,程序升温(初始温度60  $^{\circ}$ C,保持3 min;以速率8  $^{\circ}$ C·min<sup>-1</sup>升至250  $^{\circ}$ C,保持15 min)。质谱条件为电离方式电子轰击(EI),EI能量70 eV,离子源温度230  $^{\circ}$ C,四极杆温度150  $^{\circ}$ C,质量扫描范围  $m/z$  35~500,溶剂延迟时间5 min。取不同蔓荆子挥发油乙酸乙酯溶液各1  $\mu$ L,按上述检测条件分析鉴定,经过NIST02质谱计算机数据系统检索,结合人工图谱解析,查阅有关质谱文献<sup>[7-8]</sup>,鉴定各样品挥发油的化学成分,运用峰面积归一化法计算挥发油中各化学成分的相对质量分数,结果见表2。

#### 2.4 蔓荆子黄素的含量测定

**2.4.1 色谱条件**<sup>[3]</sup> Diamonsil-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m),流动相甲醇-0.4%磷酸水溶液(60:40),柱温30  $^{\circ}$ C,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量10  $\mu$ L,检测波长258 nm。理论塔板数按蔓荆子黄素计算不低于2 000。见图1。

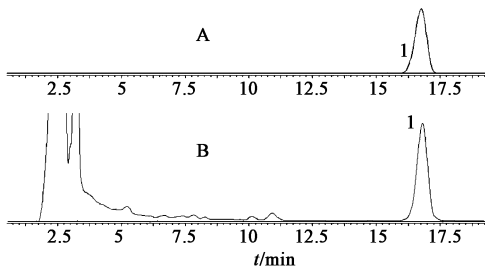
表2 不同成熟度单叶蔓荆子的挥发油化学成分比较

Table 2 Chemical compositions of volatile oil in *Viticis Fructus* with different maturity

No	$t_R$ /min	化合物名称	相对质量分数/%			
			厚田黄果	厚田黑果	都昌黄果	都昌黑果
1	8.06	侧柏烯	-	-	0.14	-
2	8.23	$\alpha$ -蒎烯	6.71	3.20	12.39	0.53
3	8.57	1,3,3-三甲基-三环[2.2.1.0 <sup>2,6</sup> ]庚烷	-	-	0.10	-
4	9.07	桉烯	1.46	0.44	2.57	0.10
5	9.16	$\beta$ -蒎烯	2.08	1.02	3.47	0.21
6	10.30	桉树脑	10.91	6.25	14.07	1.42
7	12.63	松香芹醇	0.38	0.35	0.62	-
8	13.03	松香芹酮	0.11	0.11	0.21	-
9	13.40	4-蒎烯醇	0.54	0.23	0.69	-
10	13.68	$\beta$ -松油醇	0.15	-	0.18	-
11	13.71	萘烷醇-5	-	0.13	-	-
12	15.20	左旋乙酸龙脑酯	0.42	0.44	0.37	0.10
13	15.75	1-亚甲基-4-(1-甲基乙基)环己烷	0.52	0.53	0.48	-
14	16.30	4-萘烯	13.09	12.31	11.17	4.04
15	17.03	[1S-(1,3aS,3bR,6aS,6bR)]-十氢-3a-甲基-6-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-[1,2:3,4]-环戊二烯	0.69	0.76	-	-
16	17.61	1-石竹烯	0.16	0.16	0.11	-
17	18.60	吉马烯	1.45	1.07	0.86	0.59
18	18.81	水菖蒲烯	-	0.47	0.65	0.48
19	19.16	$\delta$ -杜松烯	1.14	1.12	0.76	0.71
20	20.21	1-( <i>p</i> -甲基)乙基-3-羟基-2-丁基-醚	-	0.27	-	-
21	21.06	<i>T</i> -杜松醇	0.31	0.45	-	0.33
22	21.24	$\alpha$ -葑烯	0.39	0.79	-	0.48
23	22.48	6,6-二甲基庚烷-2,4-二烯	1.21	1.88	1.11	1.11
24	23.11	<i>N'</i> -[2,4,6(1H,3H,5H)-乙酸甲酯嘧啶-5-亚甲基]-2-硝基亚苯基胍	2.61	-	-	-
25	24.22	[1R-(1R*,4Z,9S*)]-4,11,11-三甲基-8-亚甲基-二环[7.2.0]-4-十一烯	3.00	2.98	1.88	2.89
26	24.57	[4aS-(4aS,4bR,7R,10aR)]-1,1,4a,7-四甲基-7-乙基-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,10,10a-十二氢化菲	0.47	0.51	0.38	0.56
27	24.74	[4aS-(4aS,5S,8aR)]-1,1,4a-三甲基-6-亚甲基-5-(3-甲基-2,4-戊二烯)-十氢化萘	0.25	0.30	0.24	0.37
28	24.90	4-甲基-5,5-二甲基(2-甲基-2-丙烯)-2(5H)咪喃	3.69	4.22	-	-
29	24.93	4-乙酰基-2(1H)-噻啉酮	-	-	3.59	6.16
30	25.11	2-甲基-5-异丙基苯胺	3.08	3.05	1.64	3.08
31	25.34	1,3-二甲基-2,4(1H,3H)-二羟基蝶啶	12.28	15.24	12.28	15.54
32	25.56	4-氨基-6,7-二甲基-1H-吡咯[3,4- <i>c</i> ]吡啶-1,3,(2H)-二酮	6.97	9.57	7.11	12.79
33	25.70	2-苯胺基-5,6(4H)二氢-1,3-噻嗪	0.81	-	-	-
34	25.87	2-(4-氟代苯甲基)- <i>N</i> -苯基-乙酰胺	1.21	1.57	1.46	1.86
35	26.08	7-甲基-1,2,3,5,8,8a-六氢化萘	10.65	7.87	7.75	13.41
36	26.45	7-异丙基-1,1,4a-三甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢化菲	7.43	11.82	6.28	9.67

续表2

No	$t_R$ /min	化合物名称	相对质量分数/%			
			厚田黄果	厚田黑果	都昌黄果	都昌黑果
37	26.70	4-亚甲基-1-甲基-2-(2-甲基-1-丙烯基)-1-乙烯基-环庚烷	0.35	-	-	-
38	26.81	雌酚酮	2.61	2.79	4.25	9.15
39	26.97	扁枝烯	-	0.29	-	-
40	27.14	1,5-二苯基-2H-1,2,4-三唑啉-3-硫酮	1.73	3.11	2.71	5.27
41	29.04	脱氧异水菖蒲二醇	-	-	-	0.30
42	29.16	4-(4-乙基环己基)-1-戊烷基-环己烯	-	-	-	0.32
43	29.55	十六烷	0.16	0.15	-	-
44	30.38	1H-5-丁酰基-6-己基萘	-	0.27	-	-
45	31.13	1-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯	-	-	0.27	0.98
46	31.61	2-[ <i>p</i> -氰基]-5-氯苯并咪唑	-	0.19	-	-
47	34.83	15-羟基-雄-4-烯二酮	0.42	-	-	-



A. 对照品; B. 供试品; 1. 蔓荆子黄素

图1 蔓荆子 HPLC

Fig.1 HPLC chromatogram of Vitis Fructus

**2.4.2 供试品溶液的制备** 精密称取不同成熟度的蔓荆子粉末(过三号筛)各2g,分别置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50mL,称定质量,加热回流1h,放冷,加甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.4.3 对照品溶液的制备** 精密称定蔓荆子黄素对照品适量,加甲醇制成30mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**2.4.4 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液4,8,16,20,24,32μL,按2.4.1项下条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y = 55.986X - 0.169$  ( $R^2 = 0.9998$ ),线性范围0.12~0.96μg。

**2.5 总黄酮的含量测定**<sup>[9-11]</sup>

**2.5.1 对照品溶液的制备** 精密称取芦丁对照品11.24mg,置于50mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得。

**2.5.2 检测波长的选择** 取对照品溶液和供试品溶液,以甲醇为空白对照,照紫外分光光度法于450~800nm扫描,发现二者均在504nm处有最大

吸收,且阴性无干扰,故选择检测波长504nm。

**2.5.3 线性关系考察** 精确吸取芦丁对照品溶液1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0mL,分别加5%亚硝酸钠溶液1mL,摇匀,放置6min;加10%硝酸铝溶液1mL,摇匀,放置6min;加入4%氢氧化钠溶液10mL,摇匀,加甲醇定容至25mL量瓶中,放置20min,于504nm处测定吸光度A,以A为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标,得回归方程  $A = 0.0095C - 0.0321$  ( $R^2 = 0.9992$ ),线性范围8.992~53.952μg。

**2.5.4 样品测定** 精密吸取2.4.2项下供试品溶液1mL,按2.5.3项下方法测定,结果厚田黄果、厚田黑果、都昌黄果及都昌黑果中蔓荆子黄素质量分数分别为0.268%,0.209%,0.226%,0.242%,总黄酮质量分数依次为7.902%,3.540%,3.982%,2.617%。

**3 讨论**

由表1可知,2个产区的蔓荆子黄果中挥发油含量均高于黑果,其中尤以厚田产的蔓荆子黄果含量最高。但就挥发油相对密度而言,黄果则均低于黑果。按目前测定结果分析发现,蔓荆子黄果的挥发油具有相对密度较低、色泽较深、折光率和旋光度绝对值较大的特点;蔓荆子黑果的挥发油具有相对密度较高、色泽较浅、折光率和旋光度绝对值较小的特点。相对密度、色泽、折光率等因素反应了挥发油的品质,但这些物理性状与挥发油品质之间的对应关系仍需进一步确认。

由GC-MS测定结果可知,厚田黄果共分离鉴定出35种化合物,黑果共分离鉴定出36种化合物,两

者挥发油含有的相同成分有30种;都昌黄果共分离鉴定出31种化合物,黑果共分离鉴定出27种化合物,两者挥发油含有的相同成分有23种;说明不同成熟度的蔓荆子黄果和黑果中挥发油成分种类相似。样品中 $\alpha$ -蒎烯, $\beta$ -蒎烯,桉烯,桉树脑,4-萜烯,7-甲基-1,2,3,5,8,8a-六氢化萘,7-异丙基-1,1,4a-三甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢化菲的含量较高,但各样品中却存在很大差异。虽然不同成熟度蔓荆子中挥发油的化学成分相似,但其主要化学成分的含量均存在很大差异。蔓荆子黄果转变成黑果时,挥发油中结构较简单的烯烃化合物含量明显下降,而高级脂肪烃化合物含量上升,这可能是由于天然植物生长过程中化学成分动态积累的原因。结合相关研究报告<sup>[5]</sup>,蔓荆子挥发油具有祛痰、止咳、平喘等药效,而 $\alpha$ -蒎烯、桉烯、桉树脑等成分是发挥药效的主要物质基础,说明这些成分的含量变化对蔓荆子挥发油药效可能会有显著影响。

蔓荆子中主要药效活性成分为挥发油和黄酮类成分,2010年版《中国药典》中蔓荆子的质量评价指标选择了黄酮类成分蔓荆子黄素。本文研究发现蔓荆子黄果与黑果总黄酮含量虽然存在很大差异,但蔓荆子黄素的含量两者之间差异却不明显。本文还对蔓荆子未成熟的青果进行了含量测定,结果发现厚田蔓荆子青果中蔓荆子黄素质量分数0.238%,与成熟的黄果、黑果均差异微小。中药的功效是多成分共同作用的结果,要有高质量的药效,首先应保证药材中发挥药效的活性成分。目前2010年版《中国药典》仅以蔓荆子黄素含量作为蔓荆子质量优劣的评价标准的合理性值得商榷。

由本文研究结果可初步推测蔓荆子黄果质量优于蔓荆子黑果,且2个主产区以江西厚田产地更为道地。但目前各版《中国药典》均未对蔓荆子的成熟度有明确标示。蔓荆子作为临床常用中药,具有

广泛的功效,尤以治疗头痛为佳,且能防风固沙。但近年来应用却逐渐减少,这可能是由于不合理的采收,使得原药材品质下降,疗效降低所造成。后续会结合相关药理药效学研究,揭示蔓荆子成熟过程中的化学成分变化,为该药材的合理采收和质量评价提供实验依据。

#### [参考文献]

- [1] 曹元宇. 神农本草经[M]. 上海:上海科学技术出版社,1987:220.
- [2] 赵德迎,邢作山,王钦秋,等. 蔓荆子及其栽培加工技术[J]. 中国西部科技,2005(10):54.
- [3] 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,2010:340-341,附录44,63.
- [4] 彭艳丽,刘红燕,张炳桢. 山东不同产地单叶蔓荆子挥发油 GC-MS 分析[J]. 山东中医药大学学报,2005,29(2):146-148,155.
- [5] 陈体强,吴锦忠,余德亿,等. 不同采收期单叶蔓荆子挥发油成分的分析比较[J]. 林产化学与工业,2007,27(6):99-104.
- [6] 王显著,段石硕. 艾叶及其炮制品挥发油的研究[J]. 陕西中医,2008,29(8):1069-1070.
- [7] 从浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京:科学出版社,1987:146.
- [8] 中国质谱学会有机专业委员会. 香料质谱图集[M]. 北京:科学出版社,1992:6,41.
- [9] 殷红,胡永洲,杨鑫骥,等. 正交设计研究杭白菊总提取物及总黄酮提取工艺[J]. 中国中药杂志,2004,29(8):24-26.
- [10] 宋秋烨,陈梅,吴启南,等. 淡竹叶中总黄酮提取工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(3):46-47.
- [11] 王如峰,雷帆,丁怡,等. 菊花-槐花总黄酮的制备工艺及质量控制[J]. 中国中药杂志,2010,35(22):2980-2984.

[责任编辑 刘德文]