

# 同一植株不同生长期橘皮中 辛弗林含量动态变化规律研究

韦正<sup>1</sup>, 陈鸿平<sup>1</sup>, 杨丽<sup>1</sup>, 樊丹青<sup>1</sup>, 王坚<sup>1,2</sup>, 刘友平<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 教育部中药材标准化重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 2. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016)

**[摘要]** **目的:**比较研究定产地、定植株橘皮在不同生长期橘皮中辛弗林的动态变化差异,探索橘皮因采收期不同而成为(陈皮和青皮)2 味功效存在差异的中药其内在物质基础有何不同,以及采收期与有效成分的动态累积的关系,为两药质量控制标准的完善提供依据。**方法:**采用 HPLC 测定四川蒲江、眉山、夹江及重庆市璧山 4 个不同产地、不同采收期共 45 批橘皮中的辛弗林含量。**结果:**同一植株不同生长期橘皮中辛弗林含量随着果实成熟度增加而降低,11 月之后采集的样品辛弗林的含量变化趋于稳定;同一植株不同年份相同生长期的橘皮药材中辛弗林含量亦无显著差异。**结论:**同一植株不同的采收期对陈皮、青皮辛弗林成分的影响较大,橘皮未成熟的果实中辛弗林的含量最高,不同生长期橘皮辛弗林含量呈随着果实成熟度增加而降低。

**[关键词]** 橘皮; 高效液相色谱; 含量测定; 辛弗林

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0080-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013100080

**[收稿日期]** 20120925(015)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072991);四川省教育厅自然科学重点项目(09ZA033)

**[第一作者]** 韦正,在读硕士研究生,从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel: 15208278394, E-mail: weizheng2006@163.com

**[通讯作者]** \*刘友平,研究员,博士生导师,从事中药质量标准化及药效物质基础研究, Tel: 028-61800158, E-mail: lyp@cdutcm.edu.cn

- [5] Gu L F, Zhang W G, Wang F X, et al. Low dose of homoharringtonine and cytarabine combined with granulocyte colony-stimulating factor priming on the outcome of relapsed or refractory acute myeloid leukemia [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(6): 997.
- [6] Tang J Y, Liu Y, Chen J, et al. Homoharringtonine as a backbone drug for the treatment of newly diagnosed pediatric acute myeloid leukemia: a report from a single institution in China [J]. *Inter J Hematol*, 2011, 93(5): 610.
- [7] 刘同祥,张艳平,徐羽,等. 紫杉醇联合三尖杉宁碱诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(8): 115.
- [8] 王慧娜,赵桦. 开口箭脂肪酸成分气相色谱-质谱分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(8): 86.
- [9] 张辰露,吴三桥,秦文娟,等. GC-MS 法分析中药索骨丹中脂肪酸成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(3): 100.
- [10] 刘俊,梅文莉,崔海滨,等. 白木香种子挥发油的化学成分及抗菌活性研究[J]. *中药材*, 2008, 31(3): 340.
- [11] 司高. 核桃仁醇提取物抑制癌细胞生长的实验研究[J]. *中医研究*, 2011, 24(1): 19.
- [12] Zhang Y M, Chen Y G, Huang Z X. Chemical composition of the essential oil of *Cephalotaxus lanceolata* fresh leaves [J]. *Chem Nat Comp*, 2012, 48(1): 147.
- [13] 张靖,杨柳,高文远. 天然抗肿瘤药物研究进展[J]. *中草药*, 2010, 41(6): 182.
- [14] Kelsey J A, Bayles K W, Shafii B, et al. Fatty acids and monoacylglycerols inhibit growth of *Staphylococcus aureus* [J]. *Lipids*, 2006, 41(10): 951.
- [15] Habulin M, Sabeder S, Knez Z. Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity [J]. *J Supercritical Fluids*, 2008, 45(3): 338.

[责任编辑 邹晓翠]

## Study on the Dynamic Change Law of Synephrine Components in Citrus Peel from Same Plant

WEI Zheng<sup>1</sup>, CHEN Hong-ping<sup>1</sup>, YANG Li<sup>1</sup>, FAN Dan-qing<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>1,2</sup>, LIU You-ping<sup>1\*</sup>

(1. Key lab of Chinese materia medica Standardization of Educational Ministry, College of pharmacy,

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;

2. College of TCM, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective:** Dynamic differences of synephrine content from same plant of citrus peel were studied by comparison of production area in different growth period, to explain the multi-function scientific intension of Pericarpium Citri Reticulatae (PCR) and Pericarpium Citri Reticulatae Viride (PCR<sub>V</sub>), which provides the scientific basis. It will provide a basis for the improvement of the quality control standards by dynamic accumulation relationship by picking time and effective component. **Method:** Synephrine content from 45 batches of citrus peel which is of four different habitats and different harvest time was determined by reverse-phase HPLC method. **Result:** The experimental results showed that synephrine content of citrus peel from same plant of four origin in different growth period was reduced with the increasing maturity of the fruit; synephrine content tends to be stable after samples collected in November; synephrine content of citrus peel from the same plant and the same growth period in different years had no significant differences. **Conclusion:** Different harvesting period exerts a great impact on the flavonoids content in PCR and PCR<sub>V</sub>. Citrus immature fruit is in the highest content of synephrine, synephrine content of citrus peel in different growth period decreases with increasing fruit maturity.

**[Key words]** citrus peel; HPLC; determination; synephrine

芸香科植物橘及其栽培变种的果皮,其因采收期不同而成为(陈皮和青皮)两味功效存在差异的中药。陈皮以成熟果皮入药,青皮是以幼果、未成熟果皮入药;陈皮功效为理气健脾、燥湿化痰;青皮功效为疏肝破气、消积化滞<sup>[1-3]</sup>,即陈皮长于理气健脾,青皮长于疏肝破气。

橘皮药材中次生代谢产物主要有挥发油类、黄酮类、生物碱类等,其中辛弗林为橘皮中生物碱类的代表成分,现代药理研究发现其具有收缩血管、升高血压、扩张气管和支气管等作用,已广泛用于医药、食品行业<sup>[4]</sup>。因此,辛弗林被认为是橘皮药材中的特征成分之一,可以作为橘皮原药材、饮片以及含有橘皮成药的质量控制的指标性成分。有关橘皮成分的含量测定方法已有不少报道<sup>[5-6]</sup>,而笔者认为,二者(陈皮、青皮)尽管同属理气药,但临床应用和作用特点各有不同,是体现中药“一体二用”的代表之一。而其内在物质基础有何不同,以及采收期与有效成分的动态累积有何内在关联,亦未见系统研究报道。本文就定产地、定植株采集有代表性的橘皮样品,采用 HPLC 建立陈皮、青皮药材中辛弗林的含量测定方法,对源于同一植株不同产地、不同生长期橘皮的次生代谢产物积累过程中的辛弗林动态变化

规律进行比较研究,阐明采收期与有效成分的动态关系,亦旨在为陈皮、青皮药材质量控制标准的完善及两药功效差异物质基础的阐明提供依据。

### 1 材料

岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(LC-20AT 高效泵 SIL-20A 自动进样器,SPD-20A 检测器,CTO-20A 柱温箱,LC solution 工作站软件,日本岛津公司),BP211D 型电子分析天平(1/10 万),FA2004N 型(1/万)(德国 Sartorius 股份有限公司),BUG25-12 超声波清洗机(上海必能信公司),Hypersil BDS C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm,5 μm,大连依利特分析仪器有限公司)。

辛弗林对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,HPLC 含量测定用,批准号 A1401),甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司),磷酸、95% 乙醇(分析纯,成都金山化学试剂有限公司),十二烷基磺酸钠(色谱纯,日本东京仁成工业株式会社),水为高纯水。

陈皮和青皮药材采集于四川省蒲江县鹤山镇、眉山、夹江县马村以及重庆市璧山县健龙镇等地,经成都中医药大学严铸云教授鉴定为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的果皮,结果见表 1。

表 1 陈皮、青皮样品来源

No.	药材品种	产地	采集时间
S1	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-07-15
S2	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-08-05
S3	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-08-17
S4	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-09-16
S5	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-10-17
S6	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-11-17
S7	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2011-12-14
S8	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省蒲江县鹤山镇	2012-01-08
m1	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-07-01
m2	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-07-10
m3	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-07-20
m4	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-08-03
m5	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-08-18
m6	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-09-09
m7	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-09-27
m8	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-10-14
m9	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省眉山市	2010-12-05
j1	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-08-01
j2	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-08-28
j3	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-09-12
j4	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-10-05
j5	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-10-15
j6	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-10-26
j7	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-11-06
j8	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-11-16
j9	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-12-01
j10	红橘 <i>C. reticulata</i> 'Subcompressa'	四川省夹江县马村	2010-12-15
c1	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-09-27
c2	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-10-06
c3	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-10-22
c4	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-11-06
c5	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-11-21
c6	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-12-06
c7	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2010-12-21
D1	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-07-16
D2	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-07-31
D3	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-08-15
D4	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-09-01
D5	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-09-16
D6	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-10-04
D7	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-10-17
D8	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-11-02
D9	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-11-17
D10	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-12-01
D11	大红袍 <i>C. reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市璧山县健龙镇	2011-12-16

## 2 方法与结果

### 2.1 辛弗林的含量测定

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取辛弗林对照品适量,加甲醇配制成每 mL 含辛弗林 0.109 5 mg 的溶液,即得。

**2.1.2 供试品的制备** 取样品粉末(过 3 号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 乙醇 25 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz) 45 min,冷却至室温,再称定质量,用 75% 乙醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,即得。

**2.1.3 色谱条件** Hypersil BDS C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm,大连依利特分析仪器有限公司),流动相乙腈-水(水中含 0.06% 磷酸及 0.1% 十二烷基磺酸钠)(55:45),流速 0.7 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长 224 nm,柱温 30 °C。色谱图见图 1。

液,并在上述色谱条件下进行测定及计算其含量, RSD 0.225 2%。

**2.1.8 加样回收试验** 取已知辛弗林含量的样品 6 份,每份 0.25 g,精密称定。分别精密加入辛弗林对照品溶液 5 mL(0.25 g · L<sup>-1</sup>),按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液后测定,进样量 10 μL,计算加样回收率。结果见表 2。

表 2 辛弗林加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.250 5	1.152	1.25	2.381	98.32	96.79	0.927
2	0.249 7	1.149	1.25	2.344	95.60		
3	0.249 8	1.149	1.25	2.354	96.40		
4	0.250 4	1.151	1.25	2.361	96.80		
5	0.248 9	1.145	1.25	2.358	97.04		
6	0.250 1	1.150	1.25	2.357	96.56		

**2.1.9 样品测定** 对自采的 45 批橘皮药材按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液。精密吸取 2.1.2 及 2.1.4 项下的对照品溶液各 10 μL 进样,记录峰面积。按照外标法计算辛弗林含量,结果见图 2。

各个产地同一植株不同生长期橘皮药材中辛弗林的含量随着果实成熟度增加总体呈下降趋势。7 月份采摘的橘皮中辛弗林的含量较高,在 11 月份之后采摘的橘果皮辛弗林的含量变化趋于稳定。即 7~9 月份的橘果皮未成熟(为青皮),11 月份橘果皮已成熟(为陈皮),未成熟的橘果皮辛弗林的含量高于成熟的橘果皮,与文献报道一致<sup>[4]</sup>。

从同一植株不同年份比较分析,以采于重庆璧山的橘果皮比较分析为例,9 月份之后的采集的橘果皮辛弗林含量均呈下降的趋势,而在 11 月下旬之后橘皮中辛弗林变化较小,见图 3。同一植株不同年份,采集月份比较接近的橘果皮,其辛弗林的含量未有显著差异。

## 3 讨论

前期研究发现,采收期与橘皮中辛弗林含量高低有着明显相关性<sup>[4]</sup>,为了排除采集样品时偶然误差,课题组定植株、定产地、多批次采集样品对橘皮中辛弗林的动态变化规律进行研究,发现未成熟的橘果皮辛弗林的含量高于成熟的橘果皮,即青皮辛弗林含量高于陈皮。实验表明,在 11 月份之后采摘的橘果皮辛弗林的含量变化趋于稳定,这提示我们采摘陈皮药材的时间宜在 11 月份采摘,与橘果实采收期为 10~12 月采收基本一致。

不同产地的橘皮中,7 月份采摘的橘皮中辛弗林

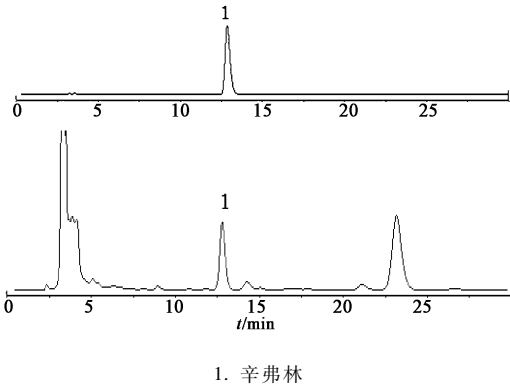


图 1 对照品(A)及样品(B)的 HPLC

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液 2,5,8,10,15,20,25,30 μL,按上述色谱条件测定。以获取的各组分峰面积值(A)为纵坐标,进样量 X(μg)为横坐标绘制标准曲线,计算得回归方程  $A = 428\ 212X + 91\ 005$  ( $r = 0.999\ 9$ )。表明辛弗林在 0.219~3.285 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取辛弗林对照品溶液(0.109 5 g · L<sup>-1</sup>),按 2.1.3 色谱条件,连续进样 6 次,每次 10 μL。测定峰面积积分值,RSD 0.758 2%,表明仪器精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,分别于 0,2,4,6,8,12,16,20 h 各测定 1 次,记录峰面积值并计算含量,RSD 0.269%,表明供试品溶液在 20 h 内稳定性良好。

**2.1.7 重复性实验** 精密称取同一批样品 6 份,各约 0.5 g,精密称定,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶

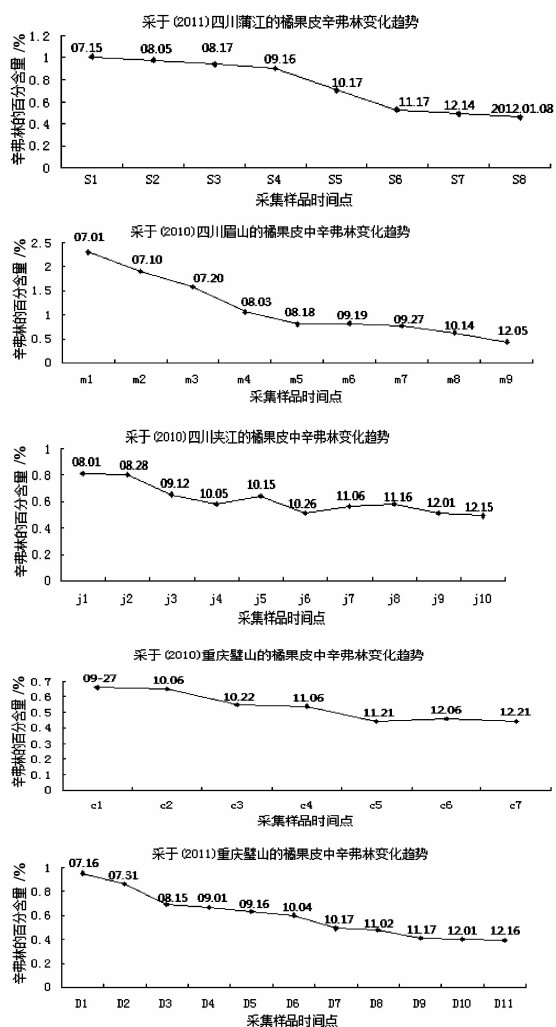


图 2 a, b, c, d, e 为 4 产地不同生长期橘果皮中辛弗林变化的趋势

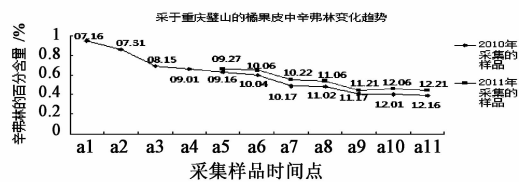


图 3 采于重庆璧山不同生长期橘果皮中辛弗林变化的趋势

的含量较高,在 11 月份之后采摘的橘果皮辛弗林的含量变化趋于稳定。产地的不同意味着很多影响因素的不同,如温度、湿度,气压还有光照时间等等。结果表

明,随着果实成熟度增加而降低的变化规律,即橘皮中辛弗林的含量在各个产地同一植株不同生长期,随着果实成熟度增加总体呈下降趋势,且在 11 月份之后橘皮成熟其含量变化趋于稳定。提示橘皮中辛弗林动态累积变化与产地有一定关系,但不是其主要因素;虽然橘皮产地不同,但随着其不断生长成熟,辛弗林成分含量逐渐趋向一致,在橘皮的生长发育达到成熟时期,其辛弗林成分的合成主要受遗传因子的影响,而受环境因子影响较小。

在临床用药上,陈皮长于理气健脾,青皮长于疏肝破气,是体现中药“一体二用”的代表之一。辛弗林为橘皮中主成分之一,具有有收缩血管、升高血压、扩张气管和支气管等作用,其含量的高低对药效有显著影响。青皮药材辛弗林含量高于陈皮,在一定意义上提示橘皮中辛弗林含量的差异导致其药效作用强度的不同,该研究结果为下一步药效研究奠定基础及对阐述陈皮、青皮两味功效存在差异中药的科学内涵具有重要意义。同时提示中药功效产生的物质基础是其所含化学成分群,化学成分群的组成、含量及相对比例是影响中药功效的关键因素,在下一步的研究将对橘皮挥发油、黄酮类及多糖类进行系统研究。

### [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, 2010:132.
- [2] 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, 43(2):201.
- [3] 南京中医药大学. 中药大辞典. 上册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005:1666, 1716.
- [4] 赵祎姗, 黄伟, 王晓宇, 等. 陈皮及青皮药材中辛弗林含量的比较研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4):900.
- [5] 胡志军, 陈建秋. HPLC 测定不同基原陈皮药材中橙皮苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10):95.
- [6] 魏惠珍, 谢菲, 饶毅, 等. 内标多控法测定枳实、枳壳、青皮和陈皮中黄酮类成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14):74.

[责任编辑 顾雪竹]