

中国产和韩国产芸香科植物的成分比较研究

刘向前¹, 魏圣淑², 白完淑³, 金京熙³, 黄完均⁴, 陆昌洙^{2*}

(1. 中南大学 化学化工学院制药工程系, 湖南 长沙 410083; 2. 韩国庆熙大学 药理学系; 3. 韩国医药品试验研究所; 4. 韩国中央大学 药理学系)

摘要: 目的 研究比较中国和韩国产芸香科 (Rutaceae) 植物枳实、枳壳、陈皮和青皮的化学成分。方法 利用水蒸气蒸馏法提取挥发油, 乙醚萃取, 所得部分通过 GC-MS 分析并和标准图谱对照确定成分结构。用峰面积归一化法计算它们的相对含量, 并采用薄层层析和高效液相色谱方法对它们的甲醇提取物进行定量、定性分析。结果 从中国产 *Citrus* L. 属枳实、枳壳、陈皮和青皮中分别得到 6、15、10 和 5 个挥发油成分, 且都以柠檬烯为主要成分; 从韩国产枳实、枳壳、陈皮、新鲜陈皮和青皮中分别得到 16、19、8、12 和 8 个挥发油成分, 其中 *Citrus* L. 属的陈皮、新鲜陈皮和青皮以柠檬烯为主要成分, 而 *Poncirus* L. 属的枳实、枳壳成分有所不同。薄层层析分析结果表明中国 *Citrus* Raf. 属枳实、枳壳、陈皮和韩国产陈皮、青皮都含生物碱脱氧肾上腺素, 而韩国产 *Poncirus* Raf. 属的枳实、枳壳则没有检出, 同时黄酮成分上也存在差别。高效液相色谱的研究表明中国和韩国产枳实、枳壳、陈皮和青皮以黄酮类物质为主, 但是成分不同, 且多检出微量生物碱。结论 芸香科植物 *Citrus* L. 属和 *Poncirus* Raf. 属的成分组成和含量上有较大差别; 而且中国和韩国的 *Citrus* L. 属植物成分也有差异。

关键词: 芸香科; 挥发油; GC-MS; 薄层层析; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)07-0586-04

Studies on constituents of Rutaceae plants growing in China compared with those in Korea

LIU Xiang-qian¹, WEI Sheng-shu³, BAI Wan-shu³, JIN Jing-xi³, HUANG Wan-jun⁴, LU Chang-su²

(1. Department of Pharmaceutical Chemistry, Chemistry and Chemical Engineering College, Central South University, Changsha, 410083, China; 2. College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea;

3. Korea Drug Test Laboratory, Korea Pharmaceutical Trades Association, Seoul 130-060,

Korea; 4. College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea)

Abstract **Object** To study systematically the constituents in peel of *Citrus* L. and *Poncirus* Raf. both growing in China and in Korea and find out some differences among them by comparison with their results. **Methods** The powdered plant materials were extracted by water steam distillation to give essential oils, which were analyzed on GC-MS and elucidated on the standard MS data, their relative contents in percentage were calculated by area normalization. And then, the qualitative and quantitative analysis of their methanol extracts were also proceeded by TLC and HPLC methods. **Conclusion** The essential oils from the plants of *Citrus* L. both in China and in Korea have higher contents of dl-limonene as a main constituent, but the plants of *Poncirus* Raf. also include dl-limonene not being as a major one; There exist abundant essential oils and flavonoids in both plants of *Citrus* L. and *Poncirus* Raf. not only in China but also in Korea; Hesperidin and narigin are main components in the plants of *Citrus* L. and narigin and neo-hesperidin in ripe peels are more than in unripe ones, but poncirin is a major in the plants of *Poncirus* Raf. in Korea.

Key words Rutaceae; essential oils; GC-MS; TLC; HPLC

现代植物化学研究报道芸香科 (Rutaceae) *Citrus* L. 属和 *Poncirus* Raf. 属植物主要含由单萜倍半萜组成的挥发油, 黄酮类及其苷, 有机酸, 甾醇以及极少量的生物碱^[1]。在《神农本草经》和历代医书中就有记载, 栽培品种多, 有如酸橙 *Citrus auran-*

tium L., 香圆 *C. wilsonii* Tanaka, 枸橼 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., 代代花 *C. aurantium* L. var. *amara* Engl., 芸香科大红柑 *C. reticulata* Blanco var. *Chachiensis* H., 福橘 *C. reticulata* Blanco var. *deliciosa* H., 朱橘 *C. reticulata* Blanco var. *ery-*

throsa Tanaka,橘 *C. reticulata* Blanco和甜橙 *C. sinensis* Osbeck等,食用和药用上中韩两国都使用悠久,主要用于理气化痰、健脾、止咳、活血和消积等。中国药典对枳实、枳壳、陈皮和青皮分别有记载,枳实和陈皮也被收载于大韩药典^[2-4]。但是由于药材市场流通比较混杂,再加上因国家、地区和用药习惯上不同,常存在同名异物或异物同名的现象,造成药材使用上的误用等。为此世界卫生组织(WHO)于2002年5月成立了专门机构 Forum Harmonization

表 1 中韩枳实、枳壳、陈皮和青皮的基源比较

Table 1 Origin comparsion of Rutaceae plants growing between in China and in Korea

名称	基 源	特 性
中国产	枳实 芸香科酸橙 <i>Citrus aurantium</i> L. 的幼果	苦、酸、微寒。入脾胃经。破气、消积、化痰等
	枳壳 芸香科酸橙 <i>C. aruantium</i> L. 的近成熟果实	苦、酸、微寒。入脾胃经。破气、消积、化痰等
	陈皮 芸香科橘 <i>C. reticulata</i> Blanco的外层成熟果皮	苦、辛、温。入脾肺经。行气和胃、化痰等
	青皮 芸香科橘 <i>C. reticulata</i> Blanco的幼果或未成熟果实的外层果皮	苦、辛、温。入肝胆经。疏肝理气、散结化滞等
韩国产	枳实 芸香科 <i>Poncirus trifoliata</i> Raf. 的成熟果实	味苦、酸、性微寒。入脾胃经。治滞食、胸闷、祛痰等
	枳壳 芸香科 <i>P. trifoliata</i> Raf. 的成熟果实	味甘、酸、性微寒温。入脾胃经。治腹痛、祛风、泻泄、宫脱等
	陈皮 芸香科 <i>Citrus unshiu</i> Mark的成熟果皮	苦、辛、温。入脾肺经。祛痰、镇咳、治胸闷和呕吐等
	青皮 芸香科 <i>C. unshiu</i> Mark的幼果及未成熟果皮	苦、辛、温。入肝胆经。舒肝破气、治胸闷、疝痛等

1. 1 材料与仪器

1. 1. 1 试验药材: 分别购买中国和韩国产枳实、枳壳、陈皮和青皮,由韩国庆熙大学校药科大学药学研究室陆昌洙教授分别作了鉴定(表 1),样品陈列于该校汉药博物馆。所有试剂均为分析纯。

1. 1. 2 仪器条件: 水蒸气蒸馏装置符合大韩药典; GC 5890/MSD HP5973, DB-5MS(30 m× 0. 254 mm× 0. 25μ m)柱 条件: 柱温 70℃ (维持 1 min)→ 250℃ (维持 6 min), 10℃ /min 进样口温度 200℃ ,载气为氦气(1. 0 mL/min), 范围 40~ 450 amu

1. 2 方法与结果

1. 2. 1 精油提取: 分别取中国和韩国的枳实、枳壳、陈皮和青皮各 50 g,依水蒸汽蒸馏方法,蒸馏 4 h,得蒸馏液,然后用乙醚萃取,浓缩乙醚萃取液得淡黄色油状物,进行 GC-MS分析。

1. 2. 2 GC样品处理方法: 样品用 500μ L乙酸乙酯加热溶解,作为供试品原液。取供试品原液 20. 0 μ L,用 2. 0 mL乙酸乙酯稀释作为分析用溶液。

1. 2. 3 实验结果: 通过 GC-MS分析,并且通过和标准图谱对照确定了它们的结构。采用峰面积归一化法计算出相对含量结果在表 2,3

2 薄层层析法定性分析

2. 1 确认试验: 分别取中国和韩国产的枳实、枳壳、陈皮和青皮各 0. 5 g,加 10 mL甲醇,回流提取 2 min,过滤,取滤液 5 mL,然后加入 0. 1 g 镁粉及盐酸 1 mL,放置,观察颜色变化。结果见表 3

Herbs(简称 WFHH)负责协调亚太地区的汉药材事务,并召开了由中、日、韩、越南等国家和地区参加的第一次工作会议。本文报道中国和韩国产芸香(Rutaceae)植物的成分研究结果。笔者分别购买了中国产和韩国产枳实、枳壳、陈皮和青皮,由韩国庆熙大学校药科大学药学研究室陆昌洙教授分别作了鉴定(表 1),并利用化学鉴别,GC-MS,薄层层析和高效液相色谱方法对它们进行了研究。

1 挥发油成分分析

2. 2 薄层层析定性实验

2. 2. 1 样品制备: 分别取中国、韩国产的枳实、枳壳、陈皮和青皮各 1. 0 g,用 10 mL甲醇超声提取,过滤,滤液作为检测液。然后分别取 0. 5 mg 标准品(脱氧肾上腺素 synephrine,橙皮苷 hesperidin,新橙皮苷 neohesperidin,柚苷 naringin,枸橼苷 poncirin,野漆树苷 rhoifolin),加甲醇 1 mL制成标准液。

2. 2. 2 实验方法及结果: 分别取检测液和标准液 0. 5~ 1μ L在同一硅胶薄层层析板上,用不同的条件进行 TLC实验(展开剂I: 甲醇-乙酸-水= 4: 1: 1的饱和上层液;展开剂II: 乙酸乙酯-甲醇-水= 77: 15: 8;展开剂III: 氯仿-甲醇-水= 30: 10: 1),结果见表 3

3 HPLC法定量分析

3. 1 实验样品制备

3. 1. 1 检测溶液配制: 精密称取中国、韩国产的枳实、枳壳、陈皮和青皮粉末各 0. 5 g,稀甲醇(7→ 10) 60 mL回流提取 2 h,过滤,用稀甲醇(7→ 10) 30 mL按同样的方法提取一次,合并过滤液,然后用稀甲醇(7→ 10)精密配制成 100 mL溶液,作为检测液。

3. 1. 2 标准品溶液配制: 分别精密称取 20 mg 标准品(脱氧肾上腺素,橙皮苷,新橙皮苷,柚苷,枸橼苷,野漆树苷)用稀甲醇(7→ 10)溶解,配制成 100 mL的标准品溶液。

3. 2 实验条件: 仪器: Waters Delta Prep 4000-HPLC分析仪;检测器: 紫外分光光度计;检测波长:

陈皮用 280 nm,其余用 313 nm;检测柱: 内径 4~ 6 mm,长 15~ 25 cm,添充料 5~ 10 μ m 的 uBond-parkTM C₁₈硅胶;柱温: 室温;流动相: 陈皮用甲醇-水 (40∶ 60),其余用甲醇-水 (30∶ 70)并且在 20 min 后甲醇以每分钟 1%增加,后 30 min 甲醇以每分钟 2%增加,最后达甲醇-水 = 70∶ 30;流速: 1.0 mL/min 所有试剂均为色谱纯或分析纯

3.3 实验方法及结果: 分别取检测液和标准品溶液 10 μ L,按上述条件进行 HPLC实验,测定峰面积,计算含量。实验结果见表 4

表 2 中韩枳实、枳壳、陈皮和青皮的挥发油成分比较

Table 2 Essential oils of Rutaceae plants growing between in China and in Korea							
样品	化合物	含量 %		样品	化合物	含量 %	
		韩国	中国			韩国	中国
枳实	β -月桂烯	11.132	—	陈皮	过氧芳樟醇	—	3.028
	Δ^1 -柠檬烯	3.999	45.252		芳樟醇	—	17.672
	3,7-二甲基-(<i>E</i>)-1,3,6-八烷三烯	3.824	—		4-甲基-1-(1-甲基)-3-环己烯-1-醇	—	1.259
	α -异松油烯	8.336	—		芳樟丙酸酯	—	3.081
	2-甲基-6-次甲基-1,7-八烷二烯-3-醇	2.531	—		橙花醇	—	1.036
	1,1-二甲基-2-烯丙基环丙烷	1.808	—		5-甲基-2-(1-甲基)-苯酚	—	0.787
	反式牻牛儿醇	1.755	—		1-甲基-2-(1-甲基)-苯	—	2.553
	醋酸香叶酯	2.677	—		十六烷酸	—	1.982
	反式石竹烯	13.825	—		Δ^1 -柠檬烯	64.277	53.920
	2 β -蒎烯	3.112	—		芳樟醇	16.316	—
	β -蒎澄烯	8.053	—		1,2-松油醇	1.897	—
	germacrene B	6.414	—		δ -4-萜烯	4.680	—
	绿叶烷	5.887	—		醋酸香叶酯	2.606	—
	3-(2',2'-二甲基-6'-亚甲基环己基)-丙基- γ -甲基硫酸酯	9.304	—		榄香烯	4.246	—
	顺式- α -可巴烯-8-醇	8.571	—		醋酸紫苏酯	3.342	—
	金合欢醇	8.773	—		β -蒎澄烯	2.635	—
	1-甲基-2-(1-甲基)-苯	—	6.693		2 β -蒎烯	—	1.174
	4-甲基-1-(1-甲基)-3-环己烯-1-醇	—	14.164		β -月桂烯	—	2.263
	2-甲基-5-(1-甲基)-苯酚	—	5.956		1-甲基-2-(1-甲基)-苯	—	10.121
	4,8,8-三甲基螺[2,6]壬-4,6-二烯	—	12.091		γ -松油烯	—	15.482
	守醇	—	15.814		α -异松油烯	—	1.079
枳壳	β -月桂烯	1.718	2.079	4-甲基-1-(1-甲基)-3-环己烯-1-醇	—	1.647	
	Δ^1 -柠檬烯	6.372	55.723	α,α -4-三甲基-3-环己烯-1-醇	—	2.168	
	过氧芳樟醇	1.442	—	2-(氨基)苯甲酸甲酯	—	10.920	
	芳樟醇乙酸酯	4.829	—	酸甲酯	—	—	
	2-甲基-6-甲基-5,7-八烷二烯-3-醇	2.330	—	α -sinensal	—	1.225	
	4-甲基-1-(1-甲基)-3-环己烯-1-醇	6.586	—	鲜品)	β -月桂烯	0.749	×
	2-呋喃甲醛	3.014	—		1-甲基-2-(1-甲基)-苯	0.840	×
	α,α -4-三甲基-3-环己烯-1-醇	10.542	—	Δ^1 -柠檬烯	35.143	×	
	A-过氧水芹烯	2.120	—	γ -松油烯	7.153	×	
	反式-2-萜萜-4-醇	3.158	—	过氧芳樟醇	1.204	×	
	2-甲基-5-(1-甲基)-(- <i>S</i>)-2-环己烯-1-酮	2.661	—	1 α -松油醇	1.306	×	
	水芹醛	2.462	—	芳樟醇	29.254	×	
	反式石竹烯	10.231	—	4-甲基-1-(1-甲基)-3-环己烯-1-醇	3.008	×	
	十二烷酸	2.578	—	α,α -4-三甲基-3-环己烯-1-醇	8.728	×	
	9-(1-次甲基)-双环[6,1,0]壬烷	18.540	—	橙花醇	1.850	×	
	1-乙基丁基苯	1.651	—	反式牻牛儿醇	2.033	×	
	1-乙氧十氢反式萘烷	6.269	—	5-甲基-2-(1-甲基)-苯酚	5.567	×	
	3,4,4a,5,8,8a-六氢-8-甲基-反式-1(2H)萘烷	6.924	—	青皮	1-甲基-2-(1-甲基)-苯	4.541	4.239
	5-次甲基-顺式-茛-2-酮	6.572	—		Δ^1 -柠檬烯	56.305	79.254
	α -蒎烯	—	0.841	γ -松油烯	4.025	7.760	
	2 β -蒎烯	—	0.736	芳樟醇	17.5000	5.749	
辛醛	—	0.735	α,α -4-三甲基-3-环己烯-1-醇	6.040	2.998		
3,7-二甲基-(<i>E</i>)-1,3,6-八烷三烯	—	0.674	顺式- α -可巴烯-8-醇	3.727	—		
γ -松油烯	—	7.815	1,Z-5, <i>E</i> -7-十二烷三烯	4.029	—		
			十六烷酸	3.834	—		
— 未测出		× 未测					
— undetected		× not be detected					

表 3 中韩枳实、枳壳、陈皮和青皮薄层层析定性实验结果

Table 3 TLC analysis results of Rutaceae plants growing between in China and in Korea

实验条件	实验内容	中 国				韩 国			
		枳 实	枳 壳	陈 皮	青 皮	枳 实	枳 壳	陈 皮	青 皮
展开剂I	盐酸-镁粉实验	红赤色	暗赤紫色	红赤色	红赤色	暗赤紫色	暗赤紫色	红赤色	暗赤紫色
	脱氧肾上腺素	Rf0. 4-	Rf0. 4-	Rf0. 4-	Rf0. 4-	-	-	Rf0. 4-	Rf0. 4-
展开剂II	橙皮苷	Rf0. 4+	+	Rf0. 4+	Rf0. 4+	-	+	Rf0. 4+	Rf0. 4+
	柚苷	Rf0. 43+	+	-	Rf0. 43+	Rf0. 43+	-	-	Rf0. 43+
展开剂III	枸橼式	-	+(少)	-	-	Rf0. 45+	-	-	-
	新橙皮苷	+	+(主)	+	-	-	-	-	-
	橙皮苷	+(主)	+	+	+(主)	+	+	+	+
	柚苷	+	+(主)	-	+	+(主)	-	-	+(主)
	枸橼苷	-	+	-	-	+(主)	+	-	+(主)
	野漆苷	-	-	-	-	+	-	-	+
+ 检出		- 未检出							
+ detected		undetected							

表 4 中韩的枳实、枳壳、陈皮和青皮的 HPLC含量测定结果

%

Table 4 HPLC analysis results of Rutaceae plants growing between in China and in Korea

%

检测项	中 国				韩 国			
	枳 实	枳 壳	陈 皮	青 皮	枳 实	枳 壳	陈 皮	青 皮
橙皮苷	2. 33	6. 75	2. 07	2. 90	0. 40	1. 10	2. 18	3. 12
新橙皮苷	0. 10	4. 75						
柚苷	0. 29	8. 64			3. 72			
枸橼苷					18. 62	3. 76		
野漆树苷		0. 03			0. 02			

4 讨论

4. 1 通过化学鉴别, GC-MS,薄层层析和高效液相色谱方法比较了中韩两国药典上收载的枳实、枳壳、陈皮和青皮的基源、化学成分。

4. 2 从中国产 *Citrus* L.属枳实、枳壳、陈皮和青皮中分别得到 6, 15, 10和 5个由单萜、倍半萜等组成的挥发油成分,且都以柠檬烯为主要成分;从韩国产枳实、枳壳、陈皮和新鲜陈皮和青皮中分别得到 16, 19, 8, 12和 8个由单萜、倍半萜等组成的挥发油成分,其中 *Citrus* L.属的陈皮、新鲜陈皮和青皮以柠檬烯为主要成分,与之相比 *Poncirus* Raf.属的枳实、枳壳成分组成及其含量上都有所不同;中国产 *Citrum* L.属枳实、枳壳、陈皮和青皮挥发油成分相对较多,新鲜品含成分多,枳壳比枳实含成分多,陈皮比青皮含成分多。

4. 3 薄层层析分析结果表明中国和韩国产 *Citrus* L.属枳实、枳壳、陈皮和青皮都含橙皮苷等黄酮类物质和生物碱脱氧肾上腺素,而韩国产 *Poncirus* Raf.属的枳实、枳壳则没有检出生物碱脱氧肾上腺素,同时中韩两国两属植物的枳实、枳壳、陈皮和青

皮中黄酮成分上也存在差别

4. 4 高效液相色谱的研究表明中国和韩国产陈皮和青皮几乎都只检出橙皮苷成分,但是中国和韩国产枳实和枳壳除检出橙皮苷成分外还检出了其它黄酮成分及微量生物碱,且中国产枳壳以柚苷最多,韩国枳实中枸橼苷高达 18. 62%。

4. 5 本研究表明芸香科植物枳实、枳壳、陈皮和青皮因地域、气候、成熟期不同,成分组成和含量也不尽相同。比较中国药典收载的 534种和韩国药典及公定书上记载的 514种药材,仅仅 172种同名同基源,所以本研究对于探明药材正品,丰富 WFHH的研究内容都有十分重要的意义。

References

[1] The Editorial Office of Zhongcaoyaoxue in Nanjing Pharmaceutical College. *Chinese Herbology* (中草药学) [M]. Nanjing: Jiangsu People's Press, 1976.
[2] *Ch P* (中国药典). 2000 ed. VolII .
[3] The Ministry of Health and Welfare. *Pharmacopoeia of Korea* (seventh revised) [M]. Seoul: Medical Press of Korea, 1998.
[4] Yook C S. *Korean Herb Medicine* (II) [M]. Seoul: GuangMyung Medical Press, 2000.