

· 中药与天然药 ·

中药佛手的质量考核

浙江省医药总公司

王诚宪

浙江省医药药材公司

韩丽丽

祝明* 刘永龙** 张柏松***

提 要 本文对佛手的主要成分采用醇浸、水煎、减压升华、柱层析等方法进行分离提取,然后采用挥发油测定、pH值测定、折光率测定、熔点测定、比色、薄层层析、紫外光谱、红外光谱等方法进行检测。检测结果所确定的指标与传统的外观检测指标相结合,可作为考核中药佛手质量优劣的依据。

佛手为芸香科植物佛手 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Noot) Swingle 的干燥果实。原植物在我国浙江、广东、广西、福建、四川、云南均有栽培^[3]。浙江省主产于金华、平阳等地^[4]。秋季果实开始变黄时采收,纵切成薄片,晒干或低温烘干成佛手片供药用^[1]。金华产者名金佛手或兰(兰溪)佛手。“佛手”二字始载于“本草纲目”,列于枸橼项下^[2],目前仍为较常用的中药,但其质量优劣全凭外观按传统方法判别,主观误差较大,无统一标准。为此,本文就其主要成分进行多种方法的理化检测。

一、仪器、试剂与样品

PHS-2型酸度计;WZS-1型阿贝折射仪;挥发油测定器;紫外分析灯(λ 2537~3650 Å);UV-1750紫外可见分光光度计;美国Nicolet 5DX型付里叶变换红外光谱仪;熔点测定装置;沪产硅胶层析板(20×5cm);橙皮甙对照品(卫生部药品生物制品检定所制,批号721-8601);鲜佛手样品采自于浙江金华罗店;佛手片样品产于浙江金华、平阳、瑞安和广东高要。

二、实验方法与结果

(一) 外观鉴别

1. 鲜佛手 柑果呈卵形或矩圆形,近柄

处略窄,有残留果柄或柄痕,长10~20cm,顶端分裂如拳或张开如指,故称“佛手”,裂数10~30,外皮鲜黄色或浅绿色,粗糙,散有疣状突起。气强烈具特异清香,味酸苦,果肉呈类白色或淡黄色,质较软而韧,无肉瓢,中心有两条纵行筋络状条纹达顶端,种子少有,有则一般为7—8粒,卵形,先端尖。

2. 佛手(片) 为佛手柑果的纵切薄片,经晒干或低温烘干而成,呈卵圆形或类椭圆形,长4~10cm,宽3~7cm,厚0.2—0.3cm,顶端稍宽,常有3~5个手指状裂瓣,外皮橙黄色或黄绿色,有众多凹下的窝点,果肉类白色或浅黄白色,散有条状或点状的维管束,质硬而脆,受潮后柔韧;气香,味微酸甜而后苦。

将外观性状,符合上述情况的佛手(片)样品,请老药工根据传统方法按质量优劣,分成四个等级,并依次编号。(见表1)

(二) 理化分析

1. 水煎出液的色泽比较和pH值的测定。

分别取不同等级的佛手(片)样品各四份,切细后各称取20g,置烧杯中加水200ml,缓缓煎煮30分钟,补足失去的水分,

表 1

等 级	产 地				按传统的判别经验拟定的规格标准
	浙江金华 A	浙江平阳 B	浙江瑞安 C	广东高要 D	
I	AI 皮 橙 黄 肉 类 白 色	BI 皮 浅 黄 绿 肉 淡 黄 白 色	CI 皮 橙 黄 肉 淡 蓝 白 色	DI 皮 橙 黄 肉 淡 蓝 白 色	质硬而脆,皮橙黄或黄绿,肉呈类白色或淡黄白色,片形大,薄而完整,气清香而浓郁,味微酸甜后苦,无杂质,虫蛀、霉变、病斑。
II	AII	BII	CII	DII	质硬而脆,皮橙黄或黄绿,肉淡黄白色或黄白色,片形较小,片薄,间有破碎,气香而浓郁,味微酸甜后苦,无杂质,虫蛀、霉变、病斑。
III	AIII	BIII	CIII	DIII	质硬而脆,肉色淡灰棕色,片形小或片厚,碎片较多、气香,味酸甜后苦,无杂质,虫蛀,片中有少量霉点但未霉变。
IV	AIV	BIV	CIV	DIV	肉色深,片厚碎片多,气微,或三分之一左右烘焦,色变黑,或部分霉变。IV等和IV等以下不可供药用。

过滤,观察滤液色泽并测定pH值。

(1) 水煎液色泽 I等品为黄色至淡红棕色; II等品为黄色至黄棕色; III等品为红棕色; IV等品及IV等品以下为棕褐色。(见表2)

(2) pH值 I等品平均pH值为4.75; II等品平均为4.78; III等品平均为4.59; IV等品平均为4.30; (见表2)

以上结果说明佛手(片)的质量与水煎液表2

的色泽之间有较密切联系,但pH值却无显著差异。

(3) 色度检查

操作方法:取本品于60℃干燥,切成小块(约0.5×0.5cm),称取20g,加水200ml,迴流煮沸30分钟,放冷,过滤,取滤液3ml,置100ml容量瓶中,加水至刻度,摇匀,与黄色标准比色液6号色(中国药典1985年版一部附录)比较,即得。(见表2)

样品编号	AI	BI	CI	DI	AII	BII	CII	DII	AIII	BIII	CIII	DIII	AIV	BIV	CIV	DIV
水煎液色泽	黄	黄	淡红棕	淡红棕	黄	黄	黄棕	淡红棕	红棕	红棕	红棕	红棕	棕褐	棕褐	棕褐	棕褐
PH 值	4.78	4.75	4.76	4.72	4.77	4.80	4.75	4.79	4.60	4.61	4.56	4.58	4.31	4.32	4.29	4.30
色度检查	浅于6号色	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	深于6号色	同左	同左	同左
挥发油含量(%)	0.27	0.23	0.25	0.21	0.26	0.24	0.25	0.22	0.22	0.18	0.21	0.16	0.08	0.08	0.07	0.05

实验结果表明, I、II、III等佛手(片)样品的色度均浅于黄色标准比色液6号色,而IV等品则均比6号色深。

2. 挥发油含量测定

取鲜佛手柑和佛手(片)按中国药典1985年版一部附录方法,分别测定挥发油含量。(见表2)

测定结果,鲜佛手柑的挥发油含量为0.28—0.34%。

佛手(片)挥发油含量, I、II等品平均皆为0.24%; III等品平均为0.19%; IV等品则均少于0.1%;

金华产的陈皮,其挥发油含量为0.22—0.26%。

测得的挥发油含量, 鲜佛手柑比佛手(片)高; 优质佛手(片)比劣质佛手(片)高。

3. 折光率测定 取以上所得的挥发油按中国药典1985年版一部附录方法测定折光率。

测定结果, 鲜佛手柑挥发油 $n_D^{20^\circ}$ 为 1.3360, 抽检 A II、A III、D II 样品, 其 $n_D^{20^\circ}$ 均为 1.3350。

金华产的陈皮, 其挥发油的折光率 $n_D^{20^\circ}$ 为 1.3387。

结果表明佛手(片)挥发油的折光率与鲜佛手柑挥发油的折光率基本一致而与陈皮有较明显差别。

4. 荧光试验

表 3

样品名称	鲜佛手柑醇浸液	佛手(片)醇浸液	佛手(片)水煎液	佛手(片)挥发油	陈皮醇浸液	陈皮水煎液
颜色和强度	蓝紫色	蓝紫色	蓝紫色	黄色	黄绿色	黄绿色
强 度	强	强	较强	极弱	弱	弱

以上试验结果表明佛手(片)的醇浸液和水煎液在紫外灯下均显强蓝紫色荧光而陈皮(金华产)的醇浸液和水煎液均显弱黄绿色荧光, 不同质量佛手(片)所显的荧光强度相差不大。

5. 薄层层析试验

取上述乙醇浸出液和水煎液作薄层层析试验。(见图 1)

层析板采用沪产层析板经 105°C 活化一小时。层析板(1)、板(2)的展开剂为: 石油醚: 乙酸乙酯 = 85:15; 显色剂为 1% 香草醛硫酸液。层析板(3)的展开剂为: 正丁醇: 醋酸: 水 = 4:1:5; 显色剂为 2% 三氯化铝乙醇液。

薄层层析结果说明

(1) 佛手挥发油中不含橙皮甙。

(2) 佛手的醇浸液和水煎液中含有少量橙皮甙。(3) 佛手的醇浸液和水煎液中含有显

分别取鲜佛手柑, 佛手(片)(样品 A II、A III、B II、B III、C II、C III、D II、D III), 陈皮(金华产), 切细, 各称取 10g, 加乙醇至 100ml, 浸 24 小时, 时时振摇, 制成 10% 的乙醇液;

另取鲜佛手柑, 佛手(片)(样品 A II、A III、B II、B III、C II、C III、D II、D III), 陈皮(金华产)适量, 分别加水并缓缓煮沸半小时, 放冷过滤, 制成 10% 水煎液;

取上述 10% 乙醇溶液和 10% 水煎液少许, 分别点于滤纸上, 置紫外灯下(入为 2537 ~ 3650 Å)观察, 可见明显荧光, 其荧光颜色和强度列表如下。(见表 3)

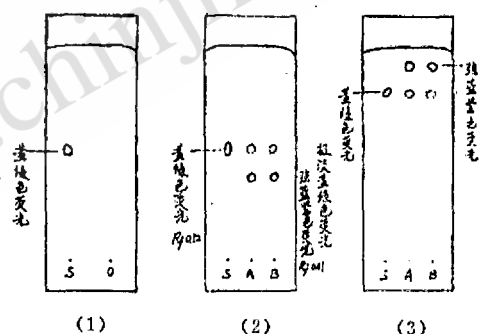


图 1

说明: 图中 S 为橙皮甙对照品; O 为佛手挥发油; A 为佛手(片)醇浸液; B 为佛手水煎液; 不同产地的佛手(片), 其层析结果基本一致。

强烈蓝紫色荧光的物质。据文献记载佛手含有莉莓素(Limettin)^{[6][8]}。我们进一步作如下系列试验, 证明此荧光物质为莉莓素。

6. 莉莓素的提取和测定^[8]。

(1) 减压升华法

取不同产地, 不同等级的佛手(片)样

品, 分别切细, 各取200 g, 用乙醇温浸三次, 合并浸出液、减压浓缩, 得褐色粘稠状物(约20 g), 加乙酸乙酯温浸三次, 每次60ml, 浸一小时(不溶物待用), 合并乙酸乙酯液, 减压浓缩, 残留物加50℃的60%乙醇50ml, 搅拌、放冷, 析出针状褐色结晶, 减压过滤, 得粗结晶, 置五氧化二磷干燥器中干燥48小时, 减压升华, 得少量微细无色针状结晶。取此结晶少许溶于乙醇中, 取一滴, 点于滤纸上, 在紫外灯下显强蓝紫色荧光。

(2) 柱层析

取上述乙酸乙酯提取时留下的不溶物, 加热水100ml 溶解, 用氯仿振摇抽提三次, 每次20ml, 合并氯仿液, 用无水 CaCl_2 干燥后, 通过 $2 \times 25\text{cm}$ 的 Al_2O_3 吸附柱, 进行层析, 以氯仿为洗脱剂, 收集在紫外灯下显强蓝紫色荧光部分(最先流出)的氯仿液, 除去氯仿, 得淡黄色结晶, 用60%乙醇少许, 进行重结晶, 得无色至淡黄色针状结晶。

得率: I 等品样品 A I、B I、C I、D I 四份平均为0.021%; II 等品 A II、B II、C II、D II, 四份平均为0.020%; III 等品 A III、B III、C III、D III, 四份平均为0.017%; IV 等品 A IV、B IV、C IV、D IV, 四份平均为0.019%。得率与佛手(片)外观质量优劣似无密切关系。

(3) 提取物的熔点测定

取上述柱层析所得的针状结晶, 任意取三个样品(A I、A II、D II)进行熔点测定, 结果如下:

样品 A I m. p $146 \sim 148.5^\circ\text{C}$,

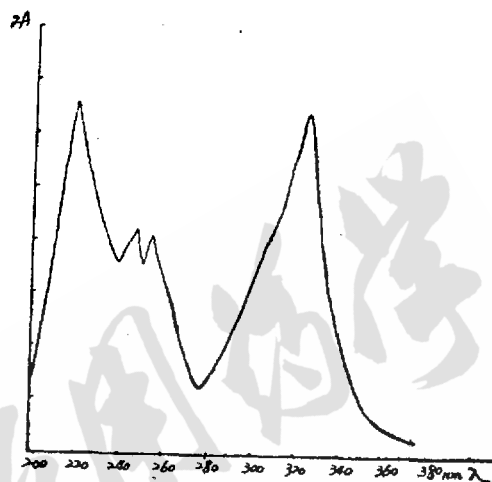
样品 A II m. p $145 \sim 148^\circ\text{C}$,

样品 D II m. p $147 \sim 148.5^\circ\text{C}$ 。与国内有关资料报道莉莓素(Limettin)的熔点为 $146 \sim 149^\circ\text{C}$ ^[8]、 147.5°C 、^[6] $147 \sim 148^\circ\text{C}$ ^[7] 相吻合。

(4) 提取物的紫外分光光度法测定

取样品 A II 经柱层析所得的针状结晶,

用乙醇作溶媒, 配制成 $40\mu\text{g}/\text{ml}$ 的醇溶液, 用紫外分光光度法测定(开始扫描波长入 200nm , 扫描速度 $2.0\text{nm}/\text{sec} \times$ 图速度 $10\text{sec}/\text{cm}$ 即 $20\text{nm}/\text{cm}$, 绝对量程 2A)。(见图2)。样品 D II 所测结果与 A II 基本相同。



图中可见此针状结晶在波长 227nm 、 254nm 、 324nm 处有吸收峰, 与有关资料报道莉莓素在紫外光区的吸收峰相符。

(5) 红外光谱测定

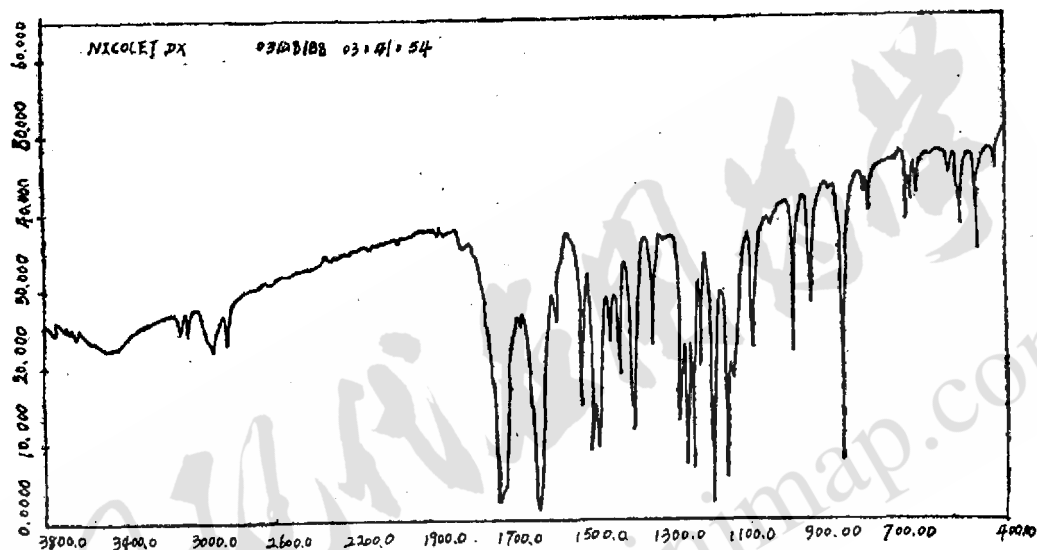
取样品 A II 经柱层析所得的针状结晶, 用 KBr 压片法制样, 用 NICOLET 5DX 型付里叶变换红外光谱仪测定, 所得红外图谱如下。(见图3)此图谱与莉莓素的标准图谱对照^[9], 基本吻合, 从而进一步证明此提取物为莉莓素。

三、小 结

通过以上实验可归纳为以下几点:

1. 佛手(片)的鉴别和质量优劣的考核, 除按传统的方法从物理外观方面进行判别外, 对其水煎液的色度检查和挥发油的含量测定应作为重要考核指标, 色度检查应不得深于黄色标准比色液6号色, 挥发油的含量应不得低于0.10%。

2. 由于莉莓素(Limettin)在紫外灯下显强蓝紫色荧光, 因此建议在佛手(片)理化鉴别项下增加荧光检查一项。



3. 鉴于佛手(片)中的主要化学成分之一莉莓素的含量与佛手质量的优劣无密切联系, 因此难以作为质量优劣的考核指标。

4. 不同产地的佛手(片)其实验结果基本相同。

参 考 文 献

- [1] 卫生部药典委员会编: 中国药典一部。人民卫生出版社, 1985, 146, 附录61—62页。
- [2] 明·李时珍著: 本草纲目(校点本下册)。人民卫生出版社, 1985, 1795。
- [3] 中国科学院药物研究所等: 中药志Ⅲ。人民卫生

出版社, 1984, 57。

- [4] 浙江药用植物志编写组: 浙江药用植物志(上册)。浙江科学技术出版社, 1980, 650。
- [5] 林启寿编: 中草药成分化学 科学出版社, 1977, 278, 295。
- [6] 松野隆男: 药学杂志, 1959, 79: 540。
- [7] The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals and Drugs. Ninth Edition 1976, 718。
- [8] 柯铭清编: 中草药有效成分理化与药理特性 湖南科学技术出版社 1982, 90。
- [9] Standard Spectra Collection: Cumulative Molecular Formula Index. 1980, 467。