

# 市售蔓荊子藥材之鑑別及其化學成分含量之測定

陳佩儀 劉宜祝 羅吉方

研究檢驗組

## 摘要

蔓荊子(Viticis Simplicifoliae Fructus)為馬鞭草科植物單葉蔓荊*Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.或蔓荊*Vitex trifolia* L.之乾燥成熟果實。中華中藥典尚未制定規範蔓荊子藥材之指標成分含量基準，為了解市售蔓荊子之基原及其指標成分含量，本計畫價購全國北、中、南區藥廠及藥房蔓荊子藥材共52件，參照文獻之記載，經性狀特徵、組織鏡檢及薄層層析法鑑別，52件檢體皆為正品蔓荊子藥材，再以高效能液相層析法(HPLC)分析檢測藥材中蔓荊子黃素(Casticin)之含量。

本實驗之高效能液相層析法係採用cosmosil 5C<sub>18</sub> AR II, 4.6 × 250 mm, 5 μm管柱，流動相為乙腈：0.1%磷酸水溶液(60：40)等梯度沖提，檢測波長為258 nm。線性迴歸方程式 $Y = 62.657X - 0.0012$  ( $r^2 = 0.9999$ )，呈良好線性關係。市售蔓荊子藥材52件，利用上述高效能液相層析法分析蔓荊子黃素含量介於0.003-0.071%之間，平均值為0.015%。

**關鍵詞：**蔓荊子、蔓荊子黃素、HPLC、指標成分含量

## 前言

蔓荊子為常用中藥，始載於「神農本草經」，列為上品，有疏散風熱、清利頭目之效，而現代藥理研究顯示，蔓荊子有鎮靜鎮痛、抗炎、降血壓、抗菌、祛痰<sup>(1)</sup>等作用。依據中華中藥典<sup>(2)</sup>，蔓荊子之基原為馬鞭草科植物單葉蔓荊*Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.或蔓荊*Vitex trifolia* L.之乾燥成熟果實。

因中華中藥典尚未制定蔓荊子藥材之指標成分含量規範，為確保蔓荊子用藥品質，首先需調查基原之正確性，防止偽品與代用品影響療效與安全。本研究計畫價購全國北、中、南區中藥廠及中藥房之蔓荊子藥材，共計52件，參照文獻之記載，經性狀特徵、外觀檢查、組織鏡檢及薄層層析法鑑別，再以高效能液相層析法(HPLC)分析檢測藥材中蔓荊子黃素之含量。

藉由本研究計畫將建立蔓荊子的鑑定方法，及

指標成分含量測定方法，作為蔓荊子藥材品質管理之參考。

## 材料與方法

### 一、材料

#### (一)儀器與器具

1. 顯微鏡(Olympus：BX51)附影像處理裝置(Evolution/QImaging Digital Camera kit)
2. 實體顯微鏡(LEICA M205C)附影像處理裝置(LAS software/Montage/Interactive Measurement)
3. 旋轉式切片機(G A-340E CSA Rotary microtome)
4. 減壓真空烘箱(Refrigerated condensation Trap KT 400/DENG YNG)
5. 真空馬達(Savant Vacuum Pump Model VP100/Franklin electric)

6. 桌上型掃描式電子顯微鏡(Mini SEM Phenom)
7. 加熱板(CAMAG Temp 20-220°C、Corning Hot Plate, USA)
8. 烘箱、塑膠離心管、超音波振盪器、展開槽
9. 薄層層析板(E. Merck; Silica gel 60 F<sub>254</sub>, 20 x 20 cm)
10. TLC照像裝置(Gel Catcher)附數位照相機(Canon Power Shot Pro1)

### (二)試藥與標準品

1. 一般化學藥品：氫氧化鉀(Merck)、異丁醇(Kanto)、二甲苯(Lab-Scan)、無水酒精(Riedel deHaen)、冰醋酸(Alps)、過氧化氫(Santoku)、正丁醇(和光)、甲醇(Lab-scan)、乙醇(Lab-scan)、乙酸乙酯(TEDIA)、硫酸(Baker)、氨水(昭和)、乙腈(LiChroslov®)均為試藥級。
2. 對照標準品：蔓荊子黃素Casticin (TAUTO BIOTECH CO., LTD)。
3. 內部標準品：對羥苯甲酸丁酯Butyl paraben (Sigma)。

### (三)檢體

1. 市售檢體：99年3-6月間分別向中藥廠(18件)、北區中藥房(12件)、中區中藥房(10件)與南區中藥房(12件)價購檢體，共計52件。
2. 標準對照藥材：本組標本室收集單葉蔓荊、蔓荊及黃荊子藥材(各1件)。

## 二、方法

### (一)外觀性狀檢查

檢視檢體外觀形狀、大小、顏色、斷面及氣味。

表一、對照標準品蔓荊子黃素濃度表

編號	1	2	3	4	5	6	7
Casticin 濃度(μg/mL)	0.513	1.026	2.051	4.102	5.128	16.410	32.819
內標濃度 (μg/mL)	10	10	10	10	10	10	10

### (二)組織切片<sup>(3)</sup>

檢體先以5%氫氧化鉀溶液軟化，再依埋蠟製片法(Paraffin Method)依序經固定、脫水、滲蠟、埋蠟、切片、張貼切片、脫蠟，再以顯微鏡檢視。

### (三)桌上型掃描式電子顯微鏡

將檢體切成薄片，再以5%氫氧化鉀溶液透化，待乾燥後，以碳膠帶固定黏貼，以桌上型掃描式電子顯微鏡檢視之。

### (四)薄層層析法

取檢體粉末約1 g，加甲醇5 mL於超音波震盪器振盪30分鐘，過濾供作檢液。標準品Casticin 1.204 mg溶於10 mL甲醇，標準品液及檢液分別點注10 μL、25 μL於薄層層析板上比對，展開溶媒為乙酸乙酯：甲醇：氨水(8：1：1，v/v) 混合液。展開後，噴硫酸：乙醇(9：1，v/v)呈色劑，於105°C下加熱5分鐘後於可見光及UV 366 nm下檢視。

### (五)高效能液相層析法

#### 1. 檢品溶液製備：

取檢體粉末約1.0 g，加甲醇25 mL於超音波震盪器振盪30分鐘，以0.45 μm millipore過濾，收集濾液置於25 mL容量瓶中，加入適量內部標準品(Butyl paraben)溶液後最終濃度為10 ppm，並以甲醇定容，供作檢液。

#### 2. 標準品溶液製備：

取對照標準品(Casticin)及內部標準品(Butyl paraben)適量，以甲醇稀釋調配成一系列濃度(表一)，以各標準品與內部標準品波峰比面積為Y軸，標準品之濃度為X軸作圖，並計算出標準品曲線之線性迴歸方程式( $Y = mx + b$ )及相關係數。

#### 3. 分析條件：

3.1 儀器：Hitachi L2200 Series

- 3.2 層析管柱：cosmosil 5C<sub>18</sub> AR II，5  
μm，內徑4.6 × 250 mm
- 3.3 檢測波長：258 nm
- 3.4 溫度：30°C
- 3.5 流速：0.8 mL/min
- 3.6 注入容量：10 μL
- 3.7 移動相：乙腈CH<sub>3</sub>CN：0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>  
(60：40)等梯度沖提

## 結果與討論

### 一、藥材外觀

果實呈圓球形，直徑4-6 mm。表面灰黑色，具白色粉霜狀茸毛，縱向淺溝4條；頂端微凹，基部常有灰白色宿萼及短果柄，宿萼包被果實的1/3-2/3，先端5齒裂，具1-2深裂，外表面密布灰白色細茸毛。橫剖面果皮厚，淡灰黃色，內果皮分成4室，每室含棕黑色種子1枚。

兩種基原之藥材外觀略有不同，單葉蔓荊之果實外觀呈圓球形，將其橫切可見子房室呈卵圓形；蔓荊之果實外觀呈長橢圓形，將其橫切可見子房室呈狹縫狀，有時可見一室發育完全，其他三室不發育而呈孔隙狀之現象。

參考文獻<sup>(4)</sup>指出，大陸商品近年發現，摻入蔓荊子藥材作為使用者有：馬鞭草科植物黃荊*Vitex negundo* L.之乾燥成熟果實(黃荊子)，其外觀呈圓球形，直徑約2 mm，基部有膜狀宿存萼片與小果柄，宿存萼片包裹果實達2/3，但多易脫落。另有馬鞭草科植物牡荊*Vitex negundo* L. var. *cannabifolia* (Sieb. et Zucc) Hand-Mazz.之乾燥成熟果實(牡荊子)、樟科植物山雞椒*Litsea cubeba* (Lour.) Pers之乾燥成熟果實(華澄茄)、大戟科植物續隨子*Euphorbia lathyris* L.之乾燥成熟種子(千金子)、杜鵑花科植物烏飯樹*Vaccinium bracteatum* Thunb.之乾燥成熟果實(南燭子)。

依據上述外觀特徵初步鑑別市售蔓荊子藥材檢體(圖一)，除兩種正品外，尚發現呈梨形或卵形之果實，長2-4 mm，直徑1-2 mm，橫剖面果皮

厚，內果皮分成3-4室不等，有些呈狹縫狀，有些則正常發育，每室中含棕黑色種子1枚，為蔓荊之發育不完全果實。茲將蔓荊、單葉蔓荊、黃荊及蔓荊發育不完全之果實作橫剖面及組織略圖比較。

### 二、藥材組織鑑別

單葉蔓荊果實橫切面(圖二)：外果皮為1層含棕色顆粒物的表皮細胞，外被角質層，密布腺毛及非腺毛。中果皮寬厚，細胞類圓形，壁稍厚且木化；其內散有細小維管束，呈規則環狀排列。內果皮為數層石細胞，壁厚，孔溝明顯，延伸至內側將種子包圍。石細胞壁內包埋有細小草酸鈣方晶。果實中軸有2-4個周韌維管束，種皮外表皮為一系列扁小薄壁細胞，其內為2-5列網紋細胞。

蔓荊果實橫切面(圖三)：與單葉蔓荊略同，唯環狀維管束排列較不規則，及內果皮數層石細胞僅包圍種子外側，不向內延伸。

黃荊果實橫切面(圖四)：橫切面果皮較薄，內果皮數層石細胞僅包圍種子外側，包埋草酸鈣方晶。

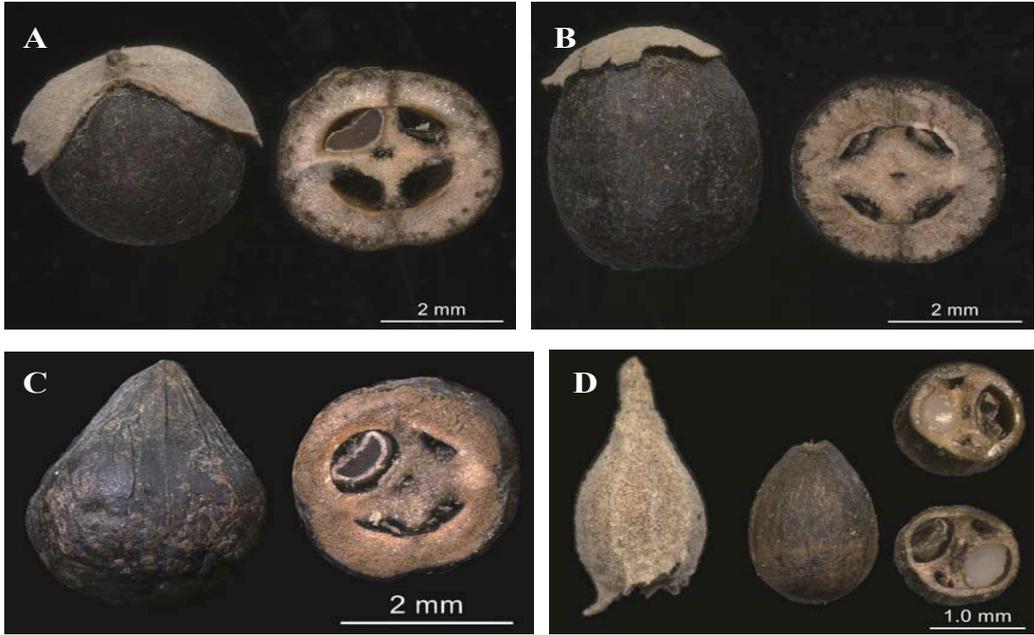
### 三、薄層層析法鑑別

本次以Casticin作為對照標準品，結果顯示，除黃荊子藥材較不明顯，其他藥材於R<sub>f</sub> 0.7處與Casticin有相對應之斑點(圖五)。蔓荊子未發育完全的果實之檢體，無法以薄層層析法區別，僅能以藥材外觀性狀予以鑑別。市售52件檢體皆含蔓荊子黃素。

### 四、高效能液相層析法

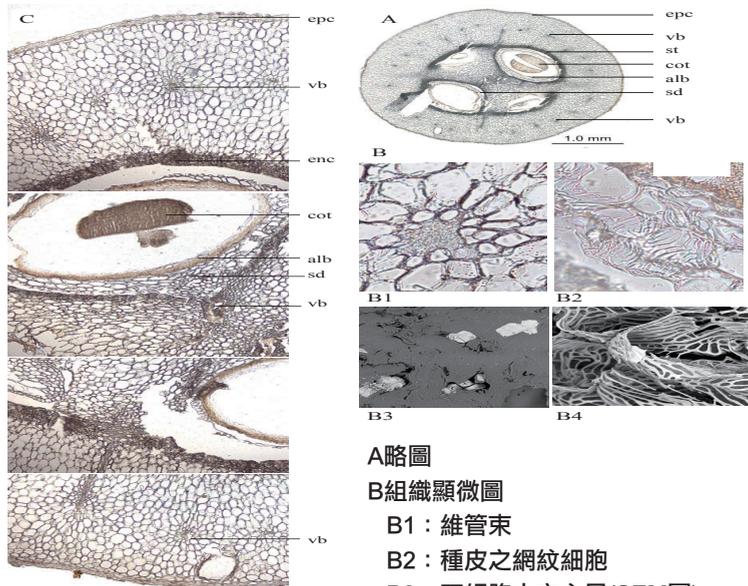
利用乙腈：0.1%磷酸水溶液(60：40)做等梯度沖提，分析藥材中蔓荊子黃素含量，蔓荊子黃素在滯留時間6.5分鐘時檢出(圖六)，其線性迴歸方程式 $Y = 62.657X - 0.0012$  ( $r^2 = 0.9999$ )，呈良好線性關係(表二)，此分析法可快速、精確檢出藥材中蔓荊子黃素含量。

市售52件蔓荊子藥材，利用前述方法分析，



圖一、蔓荊子藥材及其誤用品

- A：【蔓荊子正品】單葉蔓荊 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.
- B：【蔓荊子正品】蔓荊 *Vitex trifolia* L.
- C：蔓荊 *Vitex trifolia* L.未發育完全之果實
- D：【蔓荊子誤用品】黃荊 *Vitex negundo* Linn.



圖二、單葉蔓荊果實組織圖

A略圖

B組織顯微圖

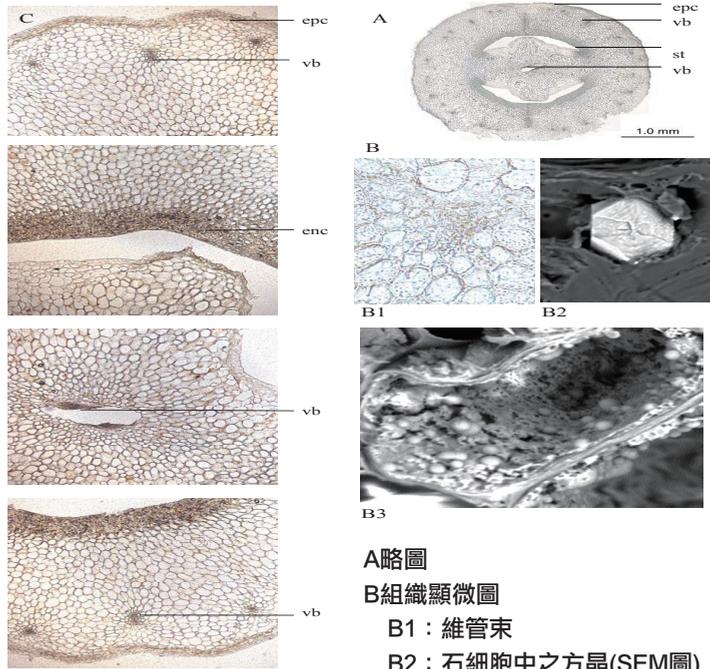
B1：維管束

B2：種皮之網紋細胞

B3：石細胞中之方晶(SEM圖)

B4：種皮之網紋細胞(SEM圖)

C組織橫切圖



圖三、蔓荊果實組織圖

A略圖

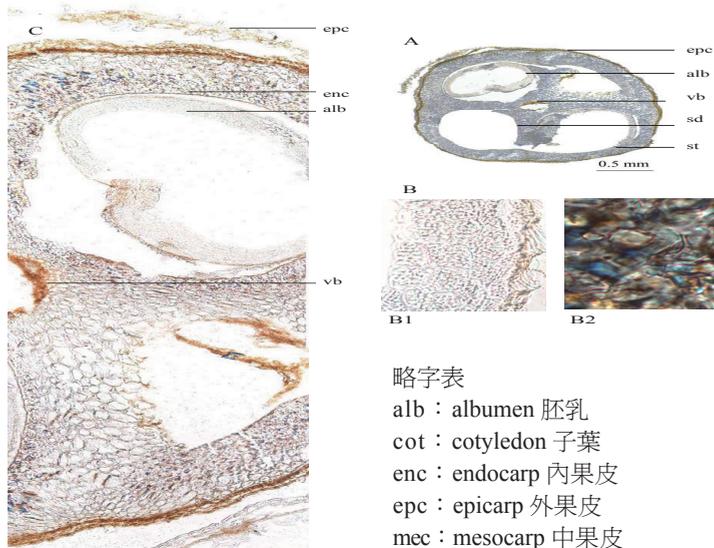
B組織顯微圖

B1：維管束

B2：石細胞中之方晶(SEM圖)

B3：薄壁細胞中澱粉(SEM圖)

C組織橫切圖



圖四、黃荊果實組織圖

A略圖

B組織顯微圖

B1：胚乳

B2：石細胞中之方晶

C組織橫切圖

略字表

alb：albumen 胚乳

cot：cotyledon 子葉

enc：endocarp 內果皮

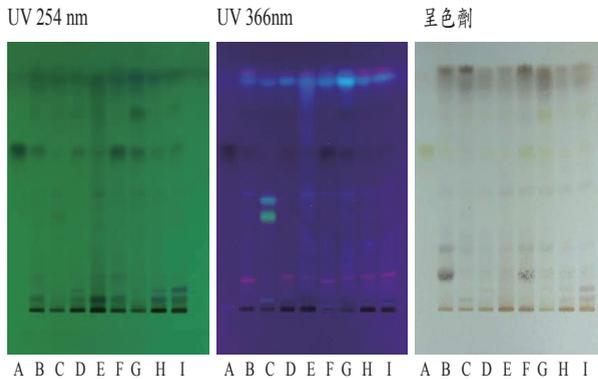
epc：epicarp 外果皮

mec：mesocarp 中果皮

sd：seed coat 種皮

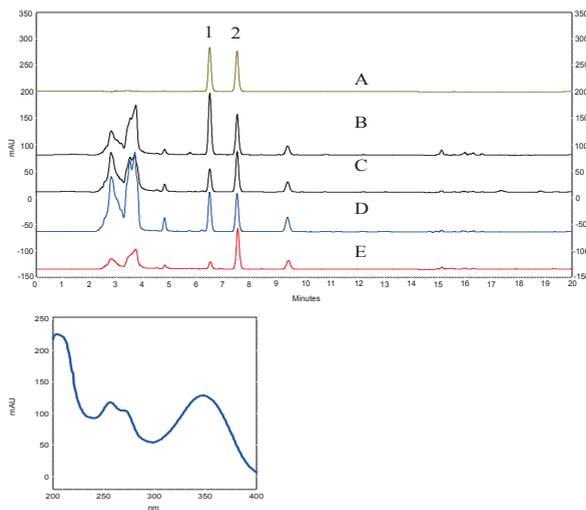
st：stone cell 石細胞

vb：vascular bundle 維管束



圖五、蔓荊子藥材薄層層析圖譜

- A：蔓荊子黃素標準品Casticin  
 B：蔓荊子  
 C：黃荊子  
 D：蔓荊未發育完全之果實  
 E-I：蔓荊子藥材  
 呈色劑：硫酸：乙醇(9：1，v/v)，105°C加熱5分鐘



圖六、蔓荊子藥材HPLC層析圖譜及蔓荊子黃素UV圖

- A：蔓荊子黃素Casticin (16.41 ppm)及內部標準品Butyl paraben (10 ppm)  
 B：單葉蔓荊*Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.  
 C：蔓荊*Vitex trifolia* L.  
 D：蔓荊未發育完全之果實  
 E：黃荊*Vitex negundo* Linn.  
 1. 蔓荊子黃素Casticin  
 2. 內部標準品Butyl paraben

表二、市售蔓荊子藥材中蔓荊子黃素濃度(%) (n=3)

樣品 No	平均(Mean ± SD) 蔓荊子黃素濃度	樣品 No	平均(Mean ± SD) 蔓荊子黃素濃度
1.	0.071 ± 0.0037	27.	0.011 ± 0.0007
2.	0.013 ± 0.0006	28.	0.016 ± 0.0006
3.	0.011 ± 0.0006	29.	0.016 ± 0.0023
4.	0.011 ± 0.0005	30.	0.019 ± 0.0015
5.	0.035 ± 0.0003	31.	0.010 ± 0.0003
6.	0.019 ± 0.0010	32.	0.009 ± 0.0003
7.	0.004 ± 0.0003	33.	0.009 ± 0.0006
8.	0.020 ± 0.0021	34.	0.008 ± 0.0004
9.	0.008 ± 0.0009	35.	0.010 ± 0.0006
10.	0.032 ± 0.0029	36.	0.008 ± 0.0008
11.	0.016 ± 0.0018	37.	0.018 ± 0.0005
12.	0.003 ± 0.0001	38.	0.005 ± 0.0003
13.	0.008 ± 0.0001	39.	0.006 ± 0.0004
14.	0.019 ± 0.0012	40.	0.007 ± 0.0005
15.	0.007 ± 0.0008	41.	0.012 ± 0.0004
16.	0.007 ± 0.0001	42.	0.009 ± 0.0004
17.	0.005 ± 0.0006	43.	0.019 ± 0.0006
18.	0.008 ± 0.0009	44.	0.013 ± 0.0006
19.	0.017 ± 0.0010	45.	0.023 ± 0.0023
20.	0.017 ± 0.0006	46.	0.022 ± 0.0008
21.	0.017 ± 0.0028	47.	0.011 ± 0.0016
22.	0.019 ± 0.0009	48.	0.006 ± 0.0001
23.	0.012 ± 0.0003	49.	0.014 ± 0.0012
24.	0.031 ± 0.0013	50.	0.016 ± 0.0012
25.	0.018 ± 0.0007	51.	0.008 ± 0.0008
26.	0.022 ± 0.0011	52.	0.013 ± 0.0007
Range		0.003 - 0.071%	
Mean ± S.D.		0.015 ± 0.0106	

其蔓荊子黃素含量介於0.003-0.071%，總平均值為0.015%。排除52件檢體中含量後20%者，建議Casticin含量下限為0.008%。

## 結 論

市售蔓荊子未檢出誤用品，以外觀檢視，發現摻雜蔓荊發育不完全之果實。市售52件蔓荊子藥材之含量介於0.003-0.071%，建議Casticin含量下限為0.008%。其中含量最高與最低來源皆為中藥廠，表示中藥廠管理藥材品質之程度具有相當落差性，研究結果將建立蔓荊子藥材之鑑定方法，作為中藥材品質管理的依據，並建議中華中

藥典增訂該藥材指標成分之含量，本計劃結果可提供行政管理單位制定成分含量之參考依據。

### 參考文獻

1. 蕭培根。2002。新編中藥志第二卷。第632-638頁。化學工業出版社，北京。
2. 行政院衛生署編印。2004。中華中藥典。第180-181頁。行政院衛生署中醫藥委員會，台北。
3. 蔡淑華。1975。植物解剖學。第37-47頁。國立編譯館，台北。
4. 周樂敏，金莉莉。2001。蔓荊子真偽鑑別。時珍國醫國藥，12(1): 50。

## Identification the Authentificity of Viticis Simplicifoliae Fructus by Pharmacognosy and Determination the Content of Casticin by HPLC

PEI-YI CHEN, YI-CHU LIU AND CHI-FANG LO

Division of Research and Analysis

### ABSTRACT

The botanical origin of Viticis Simplicifoliae Fructus is the mature and dried fruit of *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. and *Vitex trifolia* L. The quantitation and regulation of the index ingredient have not been established in the China Chinese Medicine Pharmacopoeia. In this study, 52 samples were purchased from Taiwan market, which were compared to authentic materials by morphology, microscopy and thin layer chromatography. The results showed that all of 52 samples (100%) were Viticis Simplicifoliae Fructus.

The amount of the index ingredient, casticin, in crude drugs was determined by high performance liquid chromatography. Samples were analyzed over a Cosmosil 5C<sub>18</sub> AR II reversed phase column (5 μm) using isocratic elution with acetonitrile and 0.1% phosphoric acid solution (60 : 40) and monitored at 258 nm absorbance. Regression equations revealed a linear relationship ( $r^2 = 0.9999$ ) between the peak-area ratios of casticin to internal standard and the amount of casticin in crude drugs. The contents of casticin in 52 samples of Viticis Simplicifoliae Fructus were 0.003-0.071% with a mean content of 0.015%.

Key words: Viticis Simplicifoliae Fructus, casticin, HPLC, pharmacognoy