

一测多评法测定肉桂药材中 4 种挥发油类成分

伍彩红, 冯冲, 杨丽, 丁平* (广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

摘要:目的 建立同时测定肉桂药材中 4 种挥发油类成分肉桂醇、肉桂酸、桂皮醛、2-甲氧基肉桂醛含量的一测多评法,为制定肉桂药材的质量标准提供科学依据。方法 以桂皮醛为内参物,分别建立其与肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛的相对校正因子,并进行含量计算,实现一测多评;同时采用外标法测定肉桂药材中 4 种挥发油类成分的含量,比较一测多评法计算值与外标法实测值的差异,验证其在含量测定中的可行性和准确性。结果 建立的相对校正因子重现性良好,桂皮醛与肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛的相对校正因子分别为 0.675、0.606 和 1.935,其 RSD 分别为 0.529%、0.373% 和 0.759%;肉桂药材采用一测多评法计算的含量与外标法实测值没有显著性差异。结论 利用一测多评法可实现对肉桂药材中桂皮醛等 4 种挥发油类成分的含量测定,该方法简便可行、重复性好,可应用于肉桂药材中挥发油类成分的质量评价。建议提高肉桂药材中桂皮醛含量不低于 2.5%,建议制定肉桂药材中肉桂醇、肉桂酸和 2-甲氧基肉桂醛的总量不得少于 0.2%。

关键词:一测多评法;相对校正因子;肉桂;桂皮醛;外标法

doi:10.11669/cpj.2019.05.008 中图分类号:R284 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)05-0400-07

Determination of Four Essential Oils in *Cinnamomum cassia* by Quantitative Analysis of Multi-Components by Single Marker

WU Cai-hong, FENG Chong, YANG Li, DING Ping* (School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT; OBJECTIVE To establish a method of quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) for determining four essential oils (cinnamaldehyde, cinnamyl alcohol, cinnamic acid, 2-methoxy cinnamaldehyde) in *Cinnamomum cassia*, and provide the experimental base for establishing the quality standard of *Cinnamomum cassia*. **METHODS** Cinnamaldehyde was used as the internal reference standard, and the relative correction factors (RCF) of cinnamyl alcohol, cinnamic acid, and 2-methoxy cinnamaldehyde in *Cinnamomum cassia* were calculated. The contents of the four components were determined by both external standard method and QAMS. The validity of the QAMS method was evaluated by comparison of the quantitative results of both methods. **RESULTS** The RCFs had good reproducibility, relative correction factor 0.673, 0.605 and 1.943, with RSDs of 0.529%, 0.373%, and 0.759%, respectively. No significant differences were found in the quantitative analysis results of cinnamyl alcohol, cinnamic acid, 2-methoxy cinnamaldehyde by using RCF and ESM. **CONCLUSION** In the absence of reference substance, the content determination of the four essential oils in *Cinnamomum cassia* can be realized by QAMS, and this method can be used in the multi-index evaluation of *Cinnamomum cassia* essential oil constituents. It is suggested that the standard for cinnamaldehyde content be increased to 2.5%, and the contents of total cinnamyl alcohol, cinnamic acid and 2-methoxy cinnamaldehyde be not less than 0.2%.

KEY WORDS: quantitative analysis of multi-components by single marker; relative correction factor; *Cinnamomum cassia* Presl; cinnamaldehyde; external standard method

肉桂为樟科樟属植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥树皮,具有补火助阳,引火归元,散寒止痛,温通经脉的功效^[1]。肉桂的化学成分主要有挥发油、多酚类、香豆素、糖类、以及无机元素^[2],其主要有效成分为挥发油类,具有抗炎、抗菌、抗胃溃疡、抗肿瘤等作用^[3-6]。挥发油中主要成分为桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛、 β -石竹烯等,

桂皮醛具有抗菌、抗肿瘤、抗抑郁等作用^[7-9];肉桂醇对肥胖症有一定的治疗作用^[10];肉桂酸主要药理作用为抗肿瘤、抗糖尿病、调节生物钟、保护心肌等^[11-14];2-甲氧基肉桂醛具有抗癌、抗心肌缺血再灌注损伤等作用^[15-16]。目前,2015年版《中国药典》对肉桂药材及饮片质量控制仅以挥发油中桂皮醛作为含量测定指标,而除桂皮醛外,肉桂醇、肉桂酸、2-甲

基金项目:国家新兴产业重大工程包中药标准化项目资助[“槟榔等 20 种中药饮片标准化建设”(ZYBZH-Y-GD-13)-肉桂标准(ZYY-2017-131)]

作者简介:伍彩红,女,硕士研究生 研究方向:中药资源与质量评价 * **通讯作者:**丁平,女,研究员 研究方向:中药资源与质量评价研究 Tel: (020)39358080 E-mail: dingpinggz@126.com

氧基肉桂醛也有一定的药理作用,可作为质量控制的指标性成分。刘昌孝等^[17]提出的中药质量标志物的新概念,为完善中药质量控制标准提供了新思路。因此,本实验拟以肉桂挥发油中主要有效成分桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛为指标,进行多指标质量评价研究,为肉桂药材多质量标志物成分定量测定方法的建立提供科学依据。

近年来,虽有采用 HPLC 同时测定肉桂中桂皮醛等几种成分的含量的报道^[18-20],但多采用外标法对其成分进行定量测定,存在对照品浪费等方面的不足,限制了多指标质控模式在肉桂药材多组分分析中的实际应用。一测多评法(quantitative analysis of multicomponents by single marker, QMSA)具有快速、简便、能同时实现多成分同步测定等优点,已经在众多药材或复方制剂中得到验证和广泛应用^[21-23],黄连的 QMSA 标准已被 2010 年版《中国药典》(一部)采纳^[1],2015 年版《中国药典》(一部)继续收录了丹参等品种的 QMSA 含量测定方法^[1]。本实验拟采用 QMSA 建立肉桂中桂皮醛等 4 种挥发油类成分同时测定的方法,以桂皮醛作为内参物,同时测定桂皮醛与肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛之间的相对校正因子,进行含量计算,并与外标法实测值进行比较,将桂皮醛等 4 种挥发油同时测定运用于肉桂药材的质量评价,建立肉桂药材的 QMSA 多指标质量控制方法,为肉桂质量控制提供新的评价模式。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Perkin Elmer 高效液相色谱仪(美国珀金-埃尔默(PE)公司);Unimicro Easy SepTM-1020LC 高效液相色谱仪(上海通微分析技术有限公司);Agilent 1260(美国安捷伦科技公司);Ecosil C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱;Diamondsil C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱;Sartorius BS124S 分析天平(北京赛多利斯仪器设备有限公司);Precisa XR205SM-DR 分析天平[普利赛斯国际贸易(上海)有限公司];CQ200 型超声波清洗器(上海音波声电科技公司);高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。

1.2 试剂

桂皮醛对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110710-201619,含量以 98.9% 计),肉桂醇(成都普思生物科技股份有限公司,批号:PS160715-10,纯度为 >98%),肉桂酸(上海源叶生物科技有限公司,批号: B21082,纯度为 >98%),2-甲氧基肉桂醛

(Sigma Aldrich 公司,批号 1002106754,纯度为 >98%),乙腈、磷酸为色谱纯,甲醇为分析纯,水为去离子水。

肉桂药材在广东、广西各肉桂种植基地采集,经广州中医药大学丁平研究员鉴定均为樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥树皮。

2 方法与结果

2.1 方法学考察

2.1.1 HPLC 色谱条件 含量测定采用 ECOSIL C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱;流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B),梯度洗脱(0~15 min,32%~45% A;15~21 min,45%~50% A;21~26 min,50% A),体积流量 1.0 mL·min⁻¹;进样量 20 μL,检测波长 260 nm,柱温为室温。混合对照品、肉桂供试品溶液色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 取桂皮醛、肉桂醇、2-甲氧基肉桂醛对照品适量,精密称定,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度分别为 3.949、0.352 和 0.565 mg·mL⁻¹的混合对照品储备液。取肉桂酸对照品适量,精密称定,按“2.1.2”项下方法配制成质量浓度为 0.272 mg·mL⁻¹的肉桂酸对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取肉桂粉末(过 3 号筛)约 0.2 g,精密称定,至 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,摇匀,超声处理(功率 200 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,

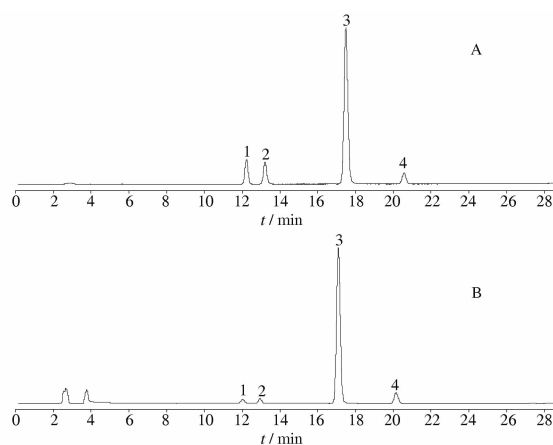


图 1 混合对照品(A)和肉桂样品(B)的 HPLC 图谱

1-肉桂醇;2-肉桂酸;3-桂皮醛;4-2-甲氧基肉桂醛

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and sample (B) of *Cinnamomum cassia* Presl

1 - cinnamyl alcohol; 2 - cinnamic acid; 3 - cinnamaldehyde; 4 - 2-methoxy cinamaldehyde

甲醇补足减失质量,摇匀,经 0.22 μm 滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取“2.1.2”项下混合对照品及肉桂酸对照品储备液各 0.05、0.1、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成 7 个不同质量浓度的混合对照品溶液及肉桂酸对照品溶液。分别精密吸取上述不同质量浓度的混合对照品溶液 20 μL,按“2.1.1”项下色谱条件进行分析。记录相应的色谱峰峰面积,以峰面积积分为纵坐标(Y),对照品质量为横坐标(ρ),进行线性回归,得到桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛的回归方程、相关系数(r)及线性范围,结果见表 1。

2.1.5 精密度试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液,连续进样 6 次,分别记录各成分峰面积并计算其 RSD,结果显示,桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛峰面积的 RSD 分别为 0.79%、1.61%、1.82% 和 1.68%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品(45 号样品),按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,于室温下放置,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析,分别记录各成分峰面积并计算其 RSD,结果显示,桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛峰面积的 RSD 分别为 1.85%、1.73%、1.56% 和 1.37%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.7 重复性试验 取肉桂样品(45 号样品)6

份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱峰,测得桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛的平均质量分数分别为 34.22、1.15、0.29 和 0.79 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 分别为 2.23%、2.84%、1.98% 和 1.99%,结果表明,该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 取已知含量的肉桂样品(45 号样品)约 0.1 g,共 9 份,精密称定,分别加入含肉桂醇 0.064 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、桂皮醛 2.746 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、2-甲氧基肉桂醛 0.288 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液 1.0、2.0、3.0 mL,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液;另取上述肉桂样品约 0.1 g,共 9 份,精密称定,加入肉桂酸 0.028 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,对照品溶液 1.0、2.0、3.0 mL,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别进样测定,计算回收率。结果肉桂醇、肉桂酸、桂皮醛、2-甲氧基肉桂醛的平均回收率依次为 101.08%、100.88%、99.29% 和 100.60%,RSD 依次为 1.44%、1.13%、1.48% 和 1.39%。

2.2 相对校正因子(f)的确定

2.2.1 肉桂中待测成分相对校正因子的计算 取“2.1.4”项下结果,以桂皮醛为内参物,按公式 $f_{s_i} = f_s/f_i = (A_s \times \rho_i)/(A_i \times \rho_s)$ (A_s 、 ρ_s 分别为内参物对照品的峰面积和浓度, A_i 、 ρ_i 分别为待测成分对照品的峰面积和浓度)计算桂皮醛(S)对肉桂醇(A)、肉桂酸(B)、2-甲氧基肉桂醛(C)的相对校正因子 $f_{s/A}$ 、 $f_{s/B}$ 、 $f_{s/C}$,结果见表 2。

表 1 桂皮醛等 4 种挥发油类成分回归方程和线性范围

Tab. 1 Regression equations and linear ranges of four essential oil constituents

Constituent	Regression equation	r	Linearity range/ μg
Cinnamyl alcohol	$Y = 1\ 819\ 521.28m + 7\ 355.15$	0.999 9	0.035 2 - 0.844 8
Cinnamic acid	$Y = 2\ 018\ 361.17m + 8\ 031.73$	0.999 9	0.027 2 - 0.652 8
Cinnamaldehyde	$Y = 1\ 221\ 070.33m + 75\ 470.53$	0.999 9	0.394 9 - 9.477 6
2-Methoxy cinnamaldehyde	$Y = 638\ 391.89m + 1\ 839.88$	0.999 9	0.056 5 - 1.356

表 2 以桂皮醛为内参物的相对校正因子

Tab. 2 Relative correction factors using cinnamaldehyde as reference substance

Series concentration	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$
1	0.680	0.609	1.925
2	0.679	0.603	1.949
3	0.674	0.604	1.959
4	0.675	0.608	1.945
5	0.672	0.607	1.929
6	0.676	0.606	1.922
7	0.670	0.604	1.914
Average value	0.675	0.606	1.935
RSD/%	0.529	0.373	0.853

2.2.2 f 重现性考察 取“2.1.4”项下对照品,按“2.1”项下色谱条件,分别考察了 Perkin Elmer、Unimicro Easy Sep™-1020LC、Agilent 1260 高效液相色谱仪和 Ecosil C₁₈、Diamondsil C₁₈ 色谱柱对肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛 f 的影响,结果见表 3,RSD 均小于 5%,表明不同仪器、不同型号色谱柱对各成分的 f 无显著影响。

2.2.3 待测组分色谱峰的定位 取“2.1.4”项下对照品,按“2.1”项下色谱条件,测定并计算待测组分与内参物在不同色谱仪和色谱柱上相对

保留时间(t_R),结果见表3,RSD均小于2%,表明利用相对保留时间进行色谱峰的定位是可行的。

2.3 一测多评法与外标法测定结果的比较

取肉桂药材样品,共计74批次,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件,进样测定,记录肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基

肉桂醛、桂皮醛色谱峰峰面积,采用外标法和一测多评法分别计算干品药材中4个成分的量,并对2种方法测定结果进行比较,结果见表4。为了更好的分析所测样品中桂皮醛含量的规律,将广东、广西基地肉桂样品桂皮醛含量分为11组,组距的宽度为5,分别用SPSS17.0软件进行分析,得出桂皮醛含量频数分布直方图,结果见图2,3。

表3 相对校正因子及相对保留时间考察结果. $n=3$

Tab.3 Investigation on relative correction factors and relative retention time. $n=3$

Instrument	Chromatographic column	Relative correction factors			Relative retention time		
		$f_{S/A}$	$f_{S/B}$	$f_{S/C}$	$t_{R/A}$	$t_{R/B}$	$t_{R/C}$
Perkin Elmer series200	ECOSIL-C ₁₈ column 1	0.675	0.606	1.935	0.70	0.76	1.18
	ECOSIL-C ₁₈ column 2	0.696	0.606	2.002	0.70	0.76	1.18
	Diamonsil-C ₁₈	0.679	0.610	1.942	0.69	0.74	1.17
Unimicro Easy Sep TM -1020LC	ECOSIL-C ₁₈ column 1	0.660	0.604	1.922	0.71	0.76	1.18
Agilent 1260	ECOSIL-C ₁₈ column 1	0.719	0.615	1.937	0.72	0.76	1.15
	RSD/%	3.33	0.75	1.62	1.83	1.32	1.21

表4 外标法和一测多评法测定不同批次肉桂药材中4种挥发油类成分的含量. $n=3$

Tab.4 Determination of four constituents in *Cinnamomum cassia* Presl of difference batches by external standard method and QAMS method. $n=3$

Sample No.	Place of origin	Content (cinnamaldehyde) /mg · g ⁻¹		Content (cinnamyl alcohol) /mg · g ⁻¹		Content (cinnamic acid) /mg · g ⁻¹		Content (2-methoxy cinnamaldehyde) /mg · g ⁻¹		Content (the total of cinnamyl alcohol, cinnamic acid, 2-methoxy cinnamaldehyde) /mg · g ⁻¹			
		RSD%		RSD%		RSD%		RSD%		RSD%			
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS		
1	Gaoliang town, Zhaoqing city, Guangdong	26.24	1.69	0.31	0.33	0.97	0.28	0.31	1.79	1.06	1.07	0.05	1.71
2	Gaoliang town, Zhaoqing city, Guangdong	23.47	0.68	0.41	0.43	2.10	0.31	0.34	1.12	3.58	3.58	1.05	4.35
3	Fuyuan village, Mocun town, Zhaoqing city, Guangdong	19.56	0.41	0.83	0.85	0.10	0.55	0.57	2.01	1.00	1.01	1.05	2.43
4	Lubu town, Gaoyao district, Zhaoqing city, Guangdong	12.19	2.05	0.13	0.15	0.95	0.20	0.22	1.06	1.20	1.19	2.48	1.56
5	Luochong village, Wulong town, Zhaoqing city, Guangdong	30.54	2.02	0.66	0.68	0.12	0.66	0.68	0.26	0.76	0.76	0.52	2.12
6	Luochong village, Wulong town, Zhaoqing city, Guangdong	14.78	0.21	0.73	0.74	2.01	0.22	0.25	0.13	1.53	1.52	0.52	2.51
7	Shangtai village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	30.29	0.97	0.41	0.35	1.05	0.29	0.32	0.03	1.84	1.85	1.83	2.52
8	Shangtai village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	15.32	1.97	0.13	0.15	1.05	0.41	0.43	0.02	0.8	0.81	1.79	1.39
9	Gaocun village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	19.07	0.99	0.35	0.37	2.48	0.31	0.33	1.96	1.35	1.36	0.10	2.06
10	Sanwei village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	21.02	0.94	0.53	0.54	0.01	0.23	0.24	2.03	1.58	1.59	0.95	2.37
11	Sanwei village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	40.88	0.03	0.62	0.64	1.84	0.3	0.32	1.88	2.74	2.76	0.95	3.72
12	Dakengbian village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	25.06	1.13	0.68	0.7	1.95	0.38	0.39	0.60	1.55	1.57	1.83	2.66
13	Wulian village, Hetai town, Zhaoqing city, Guangdong	32.30	0.32	0.26	0.23	1.87	0.38	0.41	1.06	1.55	1.58	0.12	2.22
14	Shebo village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	24.95	2.13	0.71	0.73	0.52	0.22	0.25	0.21	1.75	1.77	1.05	2.75
15	Shebo village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	27.28	1.44	0.34	0.37	1.04	0.16	0.20	0.16	0.89	0.92	1.05	1.49
16	Shuangfu village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	30.23	1.02	0.31	0.34	0.32	0.34	0.37	1.33	1.88	1.83	0.33	2.54
17	Qiankeng village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	33.98	1.12	0.44	0.47	1.28	0.38	0.40	1.36	2.85	2.89	2.48	3.76
18	Qiankeng village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	23.81	1.12	0.28	0.31	0.25	0.21	0.24	1.20	0.72	0.68	2.47	1.23
19	Yincun village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	27.71	0.02	0.63	0.66	0.24	0.39	0.36	1.32	1.71	1.74	2.27	2.76
20	Xianrenkeng village, Lecheng town, Zhaoqing city, Guangdong	21.10	0.71	0.29	0.20	1.03	0.21	0.24	2.20	0.91	0.93	0.06	1.37
21	Nanqiao village, Shuinan town, Zhaoqing city, Guangdong	21.59	0.09	0.29	0.26	0.07	0.28	0.26	0.22	2.07	2.02	0.31	2.54
22	Gaolou village, Shuinan town, Zhaoqing city, Guangdong	34.54	0.02	1.54	1.08	1.31	0.34	0.33	0.29	3.81	3.91	0.97	5.32

续表 4 (continued)

Sample No.	Place of origin	Content (cinnamaldehyde) /mg · g ⁻¹		Content (cinnamyl alcohol) /mg · g ⁻¹			Content (cinnamic acid) /mg · g ⁻¹			Content (2-methoxy cinnamaldehyde) /mg · g ⁻¹			Content (the total of cinnamyl alcohol, cinnamic acid, 2-methoxy cinnamaldehyde) /mg · g ⁻¹
		RSD%		RSD%			RSD%			RSD%			QAMS
		ESM	of ESM	ESM	QAMS	of QAMS	ESM	QAMS	of QAMS	ESM	QAMS	of QAMS	
23	Changtang village, Shuinan town, Zhaoqing city, Guangdong	18.25	0.67	0.33	0.36	1.32	0.22	0.24	0.20	2.59	2.6	0.10	3.20
24	Kangren village, Fucheng town, Luoding city, Guangdong	46.57	0.38	0.31	0.33	0.01	0.43	0.45	0.41	0.53	0.57	0.95	1.35
25	Kangren village, Fucheng town, Luoding city, Guangdong	24.32	0.36	0.35	0.37	1.84	0.18	0.21	1.17	4.57	4.58	1.83	5.16
26	Pingwan village, Fucheng town, Luoding city, Guangdong	23.61	0.63	0.12	0.14	1.95	0.30	0.32	1.28	0.58	0.59	1.79	1.05
27	Pingwan village, Fucheng town, Luoding city, Guangdong	46.04	1.10	0.23	0.26	2.01	0.41	0.43	0.39	0.36	0.37	0.29	1.06
28	Huangshakou village, Lishao town, Luoding city, Guangdong	26.95	0.31	0.19	0.22	0.59	0.40	0.42	0.38	1.10	1.13	0.68	1.77
29	Weidi town, Luoding city, Guangdong	45.28	0.97	0.74	0.77	1.52	0.22	0.25	1.95	4.38	4.43	0.74	5.45
30	Xinle town, Luoding city, Guangdong	63.87	2.10	0.21	0.23	1.77	0.64	0.67	2.01	0.45	0.48	0.10	1.38
31	Xinle town, Luoding city, Guangdong	49.45	0.95	0.53	0.55	1.85	0.25	0.28	0.52	2.05	2.08	0.39	2.91
32	Xinle town, Luoding city, Guangdong	37.08	1.79	0.29	0.32	0.14	0.27	0.29	0.30	1.91	1.94	0.54	2.55
33	Xinle town, Luoding city, Guangdong	51.64	0.12	0.33	0.36	2.03	0.35	0.38	0.32	5.10	5.16	0.64	5.90
34	Bantian village, Tanbin town, Luoding city, Guangdong	20.06	2.01	0.05	0.09	2.12	0.22	0.24	5.28	0.90	0.91	0.70	1.24
35	Chaoling village, Tanbin town, Luoding city, Guangdong	24.55	0.05	0.27	0.3	0.08	0.27	0.29	0.25	1.34	1.36	0.60	1.95
36	Silun town, Luoding city, Guangdong	46.29	1.05	0.85	0.87	0.36	0.44	0.46	5.30	1.77	1.80	0.71	3.13
37	Silun town, Luoding city, Guangdong	24.46	0.33	0.40	0.42	0.71	0.30	0.32	0.12	1.84	1.86	0.12	2.60
38	Tanlang village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	24.35	0.52	1.12	1.13	0.45	0.17	0.19	0.04	7.83	7.79	0.06	9.11
39	Tanlang village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	37.27	0.06	0.89	0.91	0.27	0.41	0.43	0.03	0.78	0.80	0.31	2.14
40	Dongshan village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	26.33	1.83	0.22	0.25	0.27	0.28	0.30	0.01	0.71	0.73	0.33	1.28
41	Paotai village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	37.49	1.79	0.62	0.65	0.04	0.30	0.33	1.84	4.56	4.56	0.26	5.54
42	Nasuo village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	29.20	0.12	1.26	1.28	2.08	0.43	0.45	1.95	0.94	0.95	0.13	2.68
43	Nasuo village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	33.19	2.01	0.11	0.14	1.93	0.42	0.44	2.01	0.92	0.94	0.04	1.52
44	Pingmu village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	21.82	2.10	0.46	0.49	1.41	0.35	0.38	1.87	5.01	4.99	0.03	5.86
45	Pingmu village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	29.76	0.06	0.26	0.28	1.48	0.29	0.24	0.59	1.06	1.08	0.02	1.60
46	Pingmu village, Nasuo town, Fangchenggang city, Guangxi	33.05	0.31	1.33	1.35	0.55	0.20	0.23	0.52	0.22	0.24	1.85	1.82
47	Naqin village, Fulong town, Fangchenggang city, Guangxi	23.17	0.33	0.41	0.43	0.55	0.33	0.36	0.04	0.57	0.58	0.46	1.37
48	Naqin village, Fulong town, Fangchenggang city, Guangxi	37.14	0.69	0.66	0.68	0.08	0.37	0.39	0.30	2.18	2.20	1.87	3.27
49	Naqi village, Fulong town, Fangchenggang city, Guangxi	23.26	0.66	1.53	1.54	1.85	0.26	0.29	0.32	0.13	0.15	0.08	1.98
50	Naqi village, Fulong town, Fangchenggang city, Guangxi	33.12	0.05	0.26	0.29	1.82	0.32	0.34	0.25	0.55	0.57	0.45	1.20
51	Naqi village, Fulong town, Fangchenggang city, Guangxi	44.04	0.40	0.25	0.28	0.14	0.47	0.49	0.38	0.51	0.53	0.42	1.30
52	Naqi village, Fulong town, Fangchenggang city, Guangxi	34.70	0.40	0.59	0.61	2.03	0.58	0.60	0.48	2.32	2.34	1.99	3.55
53	Beilun village, Naliang town, Fangchenggang city, Guangxi	39.59	0.43	0.69	0.72	2.12	0.28	0.31	0.23	3.60	3.62	3.10	4.65
54	Banmeng village, Naliang town, Fangchenggang city, Guangxi	24.95	0.25	0.33	0.35	0.08	0.20	0.23	0.16	1.64	1.65	1.39	2.23
55	Banmeng village, Naliang town, Fangchenggang city, Guangxi	27.29	0.25	0.41	0.44	0.33	0.24	0.26	0.19	0.78	0.80	0.65	1.50
56	Banmeng village, Naliang town, Fangchenggang city, Guangxi	38.48	0.01	0.27	0.30	0.36	0.36	0.38	0.29	0.82	0.84	0.69	1.52
57	Banmeng village, Naliang town, Fangchenggang city, Guangxi	46.01	0.05	0.17	0.20	0.71	0.53	0.55	0.44	0.54	0.56	0.45	1.31
58	Banba village, Dongzhong town, Fangchenggang city, Guangxi	64.98	0.06	1.33	1.36	0.69	0.39	0.42	0.32	/	/	/	1.78
59	Banba village, Dongzhong town, Fangchenggang city, Guangxi	16.86	1.39	0.31	0.34	0.14	0.33	0.35	0.27	1.60	1.60	1.34	2.29
60	Banba village, Dongzhong town, Fangchenggang city, Guangxi	20.58	1.45	0.13	0.15	1.82	0.35	0.37	0.28	1.14	1.15	1.45	1.67
61	Tansan village, Malu town, Dongxing city, Guangxi	31.78	0.52	0.35	0.38	0.14	0.31	0.34	0.25	0.08	0.10	0.05	0.82
62	Tansan village, Malu town, Dongxing city, Guangxi	23.24	0.52	0.18	0.20	2.03	0.21	0.23	0.19	0.14	0.16	0.12	0.59
63	Tansan village, Malu town, Dongxing city, Guangxi	32.39	0.06	1.18	1.20	2.12	0.22	0.24	0.17	0.62	0.64	0.52	2.08
64	Tansan village, Malu town, Dongxing city, Guangxi	41.83	1.83	1.81	1.83	0.08	0.39	0.41	0.32	1.46	1.48	1.27	3.72
65	Tansan village, Malu town, Dongxing city, Guangxi	62.81	1.79	2.11	2.13	0.33	0.59	0.62	0.50	0.33	0.36	0.27	3.11
66	Tansan village, Malu town, Dongxing city, Guangxi	44.22	0.12	0.43	0.46	0.36	0.46	0.48	0.38	0.09	0.11	0.05	1.05
67	Taochong village, Minyue town, Beiliu city, Guangxi	37.98	0.68	0.15	0.18	2.05	0.56	0.58	0.16	8.88	8.90	1.79	9.66
68	Taochong village, Minyue town, Beiliu city, Guangxi	24.26	0.41	0.33	0.35	1.91	0.87	0.89	0.27	4.10	4.10	0	5.34
69	Liunan village, Zhongsha town, Guiping city, Guangxi	29.28	0.41	1.15	1.17	0.63	0.24	0.27	0.60	1.27	1.29	2.01	2.73
70	Liangshi village, Luoxiu town, Guiping city, Guangxi	23.80	0.69	0.15	0.18	0.56	0.32	0.34	0.29	0.02	0.04	2.10	0.56
71	Liangshi village, Luoxiu town, Guiping city, Guangxi	47.85	0.68	0.21	0.23	0.08	0.76	0.78	0.14	16.01	16.07	0.06	17.08
72	Liangshi village, Hezhong town, Yulin city, Guangxi	25.70	0.41	0.12	0.14	0.33	0.34	0.37	0.25	2.39	2.40	0.31	2.91
73	Songshan town, Yulin city, Guangxi	33.57	0.41	1.40	1.43	0.36	0.50	0.52	0.46	0.37	0.39	0.33	2.34
74	Songshan town, Yulin city, Guangxi	39.61	0.05	0.26	0.29	1.31	0.33	0.36	0.41	2.71	2.73	0.26	3.38

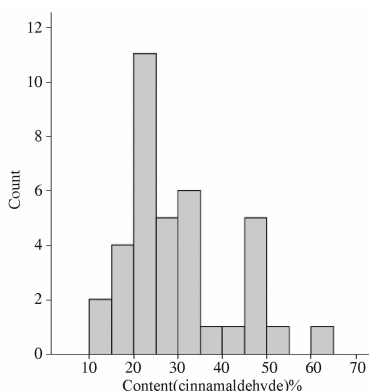


图2 广东基地肉桂样品桂皮醛含量频数分布直方图
Fig.2 The frequency distribution histogram of cinnamaldehyde in *Cinnamomum cassia* Presl from Guangdong

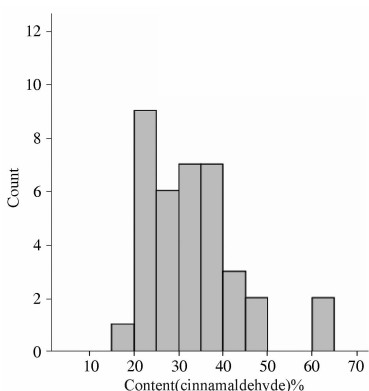


图3 广西基地肉桂样品桂皮醛含量频数分布直方图
Fig.3 The frequency distribution histogram of cinnamaldehyde in *Cinnamomum cassia* Presl from Guangxi

3 讨论

3.1 检测波长及对照品溶液制备方法的选择

本实验供试品溶液制备方法参考文献[20]中的提取方法。参考文献[20]中洗脱条件并在此基础上修改完善,最终确定的条件将分析时间缩短至30 min以内;实验考察了254、260、280、290 nm不同检测波长下桂皮醛等4种成分的整体峰形,发现260 nm条件下肉桂药材的整体色谱峰型较好且分离度好,故本实验选择260 nm作为检测波长。实验过程中,发现桂皮醛对照品纯度虽达到98.9%,但其中仍含有少量肉桂酸,本实验混合对照品中因桂皮醛量较高,会影响肉桂酸对照品峰面积,导致含量计算不准确,因此本实验中肉桂酸对照品制备成肉桂酸单独对照品溶液,桂皮醛、肉桂醇、2-甲氧基肉桂醛制备成混合对照品溶液。

3.2 一测多评法与外标法结果对比

本实验同时采用外标法同时及一测多评法测定

了肉桂药材中桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛的含量,测定结果表明,2种方法测定值之间无显著差异。本实验所建立的一测多评法在测定肉桂中桂皮醛、肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛的量时具有较高的重现性、稳定性及可信度,丰富了肉桂药材的质量评价方法,并为一测多评技术在中药质量控制中的推广和应用提供了更充分的参考依据。

3.3 广东、广西肉桂样品桂皮醛含量对比

表4含量测定结果显示,广东、广西肉桂样品桂皮醛含量分布范围分别为12.19~63.87、16.86~64.98 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,平均值为33.75 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,所测74批样品中桂皮醛含量均符合2015年版《中国药典》限量标准(桂皮醛含量不低于1.5%),按平均值下浮20%作为限量标准,建议提高肉桂药材中桂皮醛含量的标准至不低于2.5%。

图2、3频数分布图显示,广东、广西产肉桂中桂皮醛含量均数分别为29.85和33.65 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($n=37$);广东样品中桂皮醛含量主要分布在15~35 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (多数为20~25 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$),桂皮醛含量在45 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 以上的有7批样品,来源均为罗定市,分析其原因,可能与罗定为“中国肉桂之乡”、种植历史悠久、栽培年限长或生态环境有关^[24];广西肉桂样品桂皮醛含量多数分布在20~40 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,含量相对较高且分布均匀。前期调研中发现^[25],广东肉桂样品种植年限多为7~8年,这应该是广东产肉桂药材中桂皮醛含量低于广西产的主要原因,而广西为传统肉桂药材种植基地,其药材种植年限多为10年或以上,主要供临床药用,如要提高肉桂药材质量标准,建议广东肉桂种植基地提高肉桂种植年限,以10~15年为佳。

3.4 广东、广西肉桂药材中肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛总含量对比

由测定结果得出,广东、广西产肉桂中肉桂醇、肉桂酸和2-甲氧基肉桂醛的总量均数2.87 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。广东肉桂样品肉桂醇、肉桂酸和2-甲氧基肉桂醛的总量主要分布在0.5~2.0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;广西肉桂样品肉桂醇、肉桂酸和2-甲氧基肉桂醛的总量多数分布在0.5~1.0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。肉桂醇、肉桂酸、2-甲氧基肉桂醛均具有一定的药理作用,其中肉桂酸与2-甲氧基肉桂醛的保护心肌作用与肉桂的传统功效“温通经脉”一致^[26],但每个成分含量在肉桂药材中的差异较大,且其含量普遍较低,因此将肉桂醇、肉桂酸和2-甲氧基肉桂醛的总量作为其质控指标。按平均值下浮20%作为限量标准,建议制定肉桂药

材中肉桂醇、肉桂酸和 2-甲氧基肉桂醛的总量不得少于 0.2%。

REFERENCES

- [1] Ch. P (2015) Vol I (中国药典 2015 版. 一部)[S]. 2015: 136-137.
- [2] LI Y, MIAO M S. Discussion on the chemical, pharmacology and application characteristics of Cinnamon[J]. *China J Chin Med*(中医学报), 2015, 30(9): 1335-1337.
- [3] BANU K, MERVE E K, SERAP S, et al. Antibacterial effects of cinnamon oil against carbapenem resistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates[J]. *Ind Crop Prod*, 2016, 81:191-194.
- [4] GUNAWARDNA D, KARUNAWEEERA N, LEE S, et al. Anti-inflammatory activity of cinnamon (*C. zeylanicum* and *C. cassia*) extracts-identification of E-cinnamaldehyde and o-methoxy cinnamaldehyde as the most potent bioactive compounds[J]. *Food Funct*, 2015, 6(3):910-919.
- [5] KIM J E, SON J E, JEONG H, et al. A novel cinnamon-related natural product with pim-1 inhibitory activity inhibits leukemia and skin cancer[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(3):2716-2728.
- [6] ZHENG H, WHITMAN S A, WU W, et al. Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin induced diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2011, 60(11):3055-3066.
- [7] ZHANG Y B, LIU X Y, JIANG P P, et al. Mechanism and antibacterial activity of cinnamaldehyde against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*[J]. *Mod Food Sci Technol*(现代食品科技), 2015, 31(5):31-35.
- [8] YAO Y, HUANG H Y, YANG Y X, et al. Cinnamic aldehyde treatment alleviates chronic unexpected stress induced depressive-like behaviors via targeting cyclooxygenase-2 in mid-aged rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162:97-103.
- [9] BEA W Y, CHOI J S, KIM J E, et al. Cinnamic aldehyde suppresses hypoxia-induced angiogenesis via inhibition of hypoxia-inducible factor-1 α expression during tumor progression[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 98(1): 41-50.
- [10] HWANG D I, WON K J, KIM D Y, et al. Cinnamyl alcohol, the bioactive component of chestnut flower absolute, inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells by downregulating adipogenic transcription factors[J]. *Am J Chin Med*, 2015, 45(4):1-14.
- [11] WANG G H, GUO Z Y, SHI S L, et al. Effect of cinnamic acid on proliferation and differentiation of human osteosarcoma MG-63 cells[J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2012, 28(9):1262-1266.
- [12] ADISAKWATTNAN S. Cinnamic acid and its derivatives: mechanisms for prevention and management of diabetes and its complications[J]. *Nutrients*, 2017, 9(2):163; doi: 10.3390/nu9020163.
- [13] OISHI K, YAMAMOTO S, OIKE H, et al. Cinnamic acid shortens the period of the circadian clock in mice[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2017, 9: 232-237.
- [14] HAO J P, GAO Y Q, HE S H, et al. Protective effect of cinnamic acid preconditioning in the myocardial ischemia reperfusion injury of rats by Akt signal pathway[J]. *Chin J Evid Based Cardiovas Med*(中国循证心血管医学杂志), 2016, 8(8): 932-934.
- [15] YAMAKAWA D, KIDOYA H, SAKIMOTO S, et al. 2-Methoxycinnamaldehyde inhibits tumor angiogenesis by suppressing Tie2 activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 415(1): 174-180.
- [16] HWA J S, JIN Y C, LEE Y S, et al. 2-Methoxycinnamaldehyde from *Cinnamomum cassia* reduces rat myocardial ischemia and reperfusion injury *in vivo* due to HO-1 induction[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(2): 605-615.
- [17] LIU C X, CHEN S L, XIAO X H, et al. A new concept on quality marker of Chinese materia medica; quality control for Chinese medicinal products[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2016, 47(9):1443-1457.
- [18] HUANG Y T, PANT, WEN J, et al. Quality representation and correlation analysis of the characteristic spectrum of Rougui based on drug system[J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*(北京中医药大学学报), 2015, 38(5):344-350.
- [19] MA R R, TANG Y H, SUN Z L, et al. Determination of cinnamaldehyde and cinnamic acid in Cortex Cinnamomi from different habits by RP-HPLC[J]. *Mod Chin Med*(中国现代中药), 2008, 10(4): 9-11.
- [20] YUAN P F, MA Y J, SU D, et al. Quantification of seven phenylpropanoid compounds in Chinese Cinnamomi Cortex and Ramulus by HPLC[J]. *J Chin Pharm Sci*(中国药科学英文版), 2015, 24(9):591-599.
- [21] WANG M, JIANG Y, CHEN X Q, et al. Simultaneous determination of five compounds in extract of *Penthorum chinense* Pursh. using quantitative analysis of multi-components by single-marker[J]. *Chin Pharm J*(中国药科学杂志), 2016, 51(18): 1545-1550.
- [22] YU H H, ZHONG M, DING R, et al. A quantitative method for simultaneous assay of seven active ingredients with one marker in *Scrophularia ningpoensis* root[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2017, DOI:10.19540/j.cnki.cjmm.20170419.008.
- [23] WANG X Y, HUO T T, LI Z G. Simultaneous determination of 4 active components in Qijudihuang oral liquid by QAMS method[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2017, 37(2): 290-296.
- [24] LIN X J, ZHOU H S, WU S H, et al. Investigation report of cinnamon industry in Guangdong Province[J]. *Chin J Trop Agr*(热带农业科学), 2016, 36(1): 80-84.
- [25] WU C H, SHU M, LI Q, et al. Investigation on *Cinnamomum cassia* Presl resource in Guangdong and Guangxi[J]. *Chin Med J Res Pract*(现代中药研究与实践), 2017, 31(5): 14-17, 21.
- [26] HOU X T, HAO E W, QIN J F, et al. Chemical components and pharmacological action for *Cinnamomum cassia* and predictive analysis on Q-marker[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2018, 49(1): 20-34.

(收稿日期:2018-07-01)