

Progress on Analytical Methods for Coumarins in Medicinal Plants

Xiaoling Meng, Qian Li*, Wenjuan Zhu, Yahua Duan, Yehong Guo*

Gansu Provincial Key Laboratory of Good Agricultural Productive Technology for Traditional Chinese Medicines, Department of Cultivation and Identification of Chinese Herbal Medicine, Institute of Chinese Medicinal Materials, College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu
Email: *liqian1984@gsau.edu.cn, *guoyh@gsau.edu.cn

Received: Oct. 4th, 2017; accepted: Oct. 28th, 2017; published: Nov. 6th, 2017

Abstract

Coumarins compounds are one kind of active ingredient in Chinese traditional medicine, such as *Fructus Cnidii*, *Fraxini Cortex*, *Angelica dahurica* etc. Coumarins have anti-HIV, anti-tumor, anti-inflammatory, anti-oxidation, antibacterial and other biological activities, which have acted as important index for quality control of Chinese material medica. Therefore, it is important to detect the amount of coumarins in medicinal plants. Herein, the progress on analytical methods for coumarins in medicinal plants was summarized and reviewed. The advantages and disadvantages of various analytical methods were discussed and the further research orientations were also prospected in this paper.

Keywords

Coumarins, UV-VIS Absorption, Chromatography, Fluorescent Analysis, Fluorescent Imaging

药用植物中香豆素类化合物的分析方法研究进展

孟小玲, 李 欠*, 朱文娟, 段亚华, 郭晔红*

甘肃农业大学农学院, 中药材研究所/中草药栽培与鉴定系, 甘肃省中药材规范化生产技术创新重点实验室, 甘肃 兰州
Email: *liqian1984@gsau.edu.cn, *guoyh@gsau.edu.cn

收稿日期: 2017年10月4日; 录用日期: 2017年10月28日; 发布日期: 2017年11月6日

*通讯作者。

文章引用: 孟小玲, 李欠, 朱文娟, 段亚华, 郭晔红. 药用植物中香豆素类化合物的分析方法研究进展[J]. 植物学研究, 2017, 6(6): 366-375. DOI: 10.12677/br.2017.66048

摘要

传统中药蛇床子、秦皮、白芷等含有丰富的香豆素。香豆素类化合物具有抗HIV、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌等多方面的生物学活性，已经作为中药质量控制的一类重要指标成分，因此香豆素类化合物的分析检测具有重要意义。本文就药用植物中香豆素的分析方法的研究现状进行了综述，比较了各种分析方法的特点，并对其发展趋势和应用前景进行了展望。

关键词

香豆素，紫外-可见分光光度法，色谱法，荧光分析，荧光成像

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

香豆素类化合物(Coumarins)是具有苯骈 α -吡喃酮母核的一类天然化合物的总称，在结构上可以看成是一类由顺式邻羟基桂皮酸分子内脱水环化内脂化合物。香豆素广泛存在于植物界，为高等植物的次生代谢产物，具有芳香气味，其中以伞形科和芸香科植物中分布最多，菊科、豆科、瑞香科、木犀科等次之，少数来自微生物。在植物体内，香豆素类化合物常常以游离状态或与糖结合成苷的形式存在，大多存在于植物的花、叶、茎和果中，通常以幼嫩的叶芽中含量较高。传统中药蛇床子、秦皮、白芷、祖师麻、前胡等含有丰富的香豆素。香豆素类化合物具有抗HIV、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌等多方面的生物学活性，受到国内外学者的广泛关注[1]-[6]。从结构上划分，香豆素包括简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素和其他类香豆素(如图1)。

现阶段香豆素的分析方法主要有薄层色谱法、紫外-可见分光光度法、高效液相色谱法、气相色谱法，荧光分析法和荧光成像法等。表1为文章中所涉及到主要药用植物及香豆素种类。

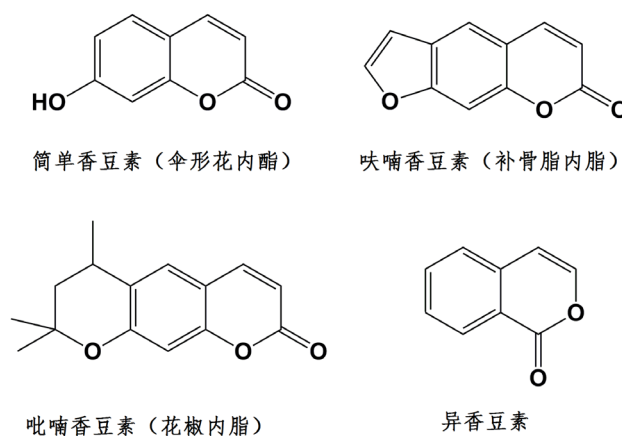


Figure 1. Structure types of Coumarins

图1. 香豆素的结构类型

Table 1. Coumarins in medicinal plants**表 1.** 药用植物中包含的香豆素

药用植物	香豆素类型
草木樨	香豆素、双香豆素
羌活	紫花前胡苷
茵陈	6, 7-二甲氧基香豆素(滨蒿内酯)
无梗五加果	6,7 二甲氧基香豆素
独活	蛇床子素
白芷	欧前胡素、异欧前胡素、氧化前胡素、当归素、蛇床子素、王草素、花椒毒素、花椒毒酚、伞形花内酯
秦皮	秦皮甲素、秦皮苷、秦皮乙素、秦皮素
白花蛇舌草	东莨菪亭(7-羟基-6-甲氧基香豆素)、耳草酮
沙参	佛手柑内酯、花椒毒酚
补骨脂	补骨脂素、补骨脂定
蛇床子	蛇床子素、异补骨脂素、花椒毒素、佛手柑内酯、异茴芹内酯、欧前胡素和二氢欧山芹醇
当归	补骨脂素、花椒毒素和佛手柑内酯
多伞阿魏	倍半萜烯香豆素
绵头雪兔子	伞形花内酯、东莨菪亭
球花石斛	大黄素、泽兰内酯、东莨菪内酯和滨蒿内酯
明党参	珊瑚菜内脂(珊瑚菜素)

2. 薄层色谱法

薄层色谱法(TLC)是一种吸附薄层色谱分离法,它利用各成分对同一吸附剂吸附能力不同,使在流动相(溶剂)流过固定相(吸附剂)的过程中,连续的产生吸附、解吸附、再吸附、再解吸附,从而达到各成分的互相分离的目的。薄层色谱法是快速分离和定性分析少量物质的一种很重要的实验技术手段,主要用于药品的鉴别、杂质检查、含量测定和跟踪化学反应进程等。

草木樨是豆科草木樨属(*Melilotus* L.)的一年生和二年生草本植物,草木樨植株中含香豆素(Coumarin)有机成分,若在收割后保存不妥,易发霉变质,会使双香豆素(Dicoumarin)含量增加(结构如图2中所示)。双香豆素具有箭毒样作用,过量的双香豆素进入动物机体会对抗维生素K,并且抑制肝脏凝血酶原形成,进而导致全身发生出血性疾患甚至导致动物死亡。万碧秋等人利用薄层色谱法分离了草木樨中的双香豆素并且采用紫外分光光度计测定了其含量[7][8]。

羌活为伞形科羌活属药用植物,主治性温,祛寒湿,用于外感风寒、头痛无汗、寒湿痹、上肢风湿疼痛等症状。羌活中主要含有挥发油、香豆素类、氨基酸、微量元素等物质。羌活和宽叶羌活均含有紫花前胡苷,鉴别和评价羌活和宽叶羌活药材质量时,可采用薄层色谱法对紫花前胡苷进行定性鉴别[9][10],该方法已经写入2010版和2015版中国药典。

薄层色谱法操作简单,成本低,混合样品中吸光或荧光组分较少时,分离测定效果良好,但理论塔板数较低,比移值Rf相差较小的组分不易分开而导致定量有偏差。

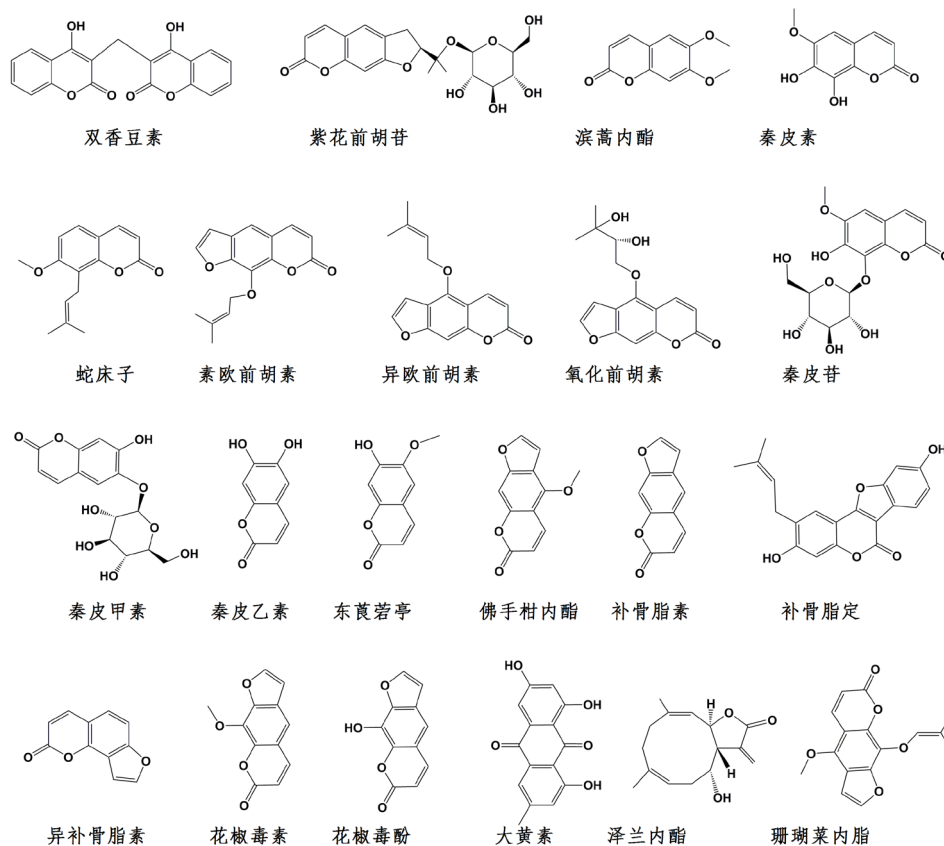


Figure 2. Structures of various coumarins in medicinal plants of this review
图 2. 本综述中药用植物中的香豆素结构

3. 紫外 - 可见分光光度法

紫外 - 可见分光光度法应用范围很广，可用于定性、定量和结构分析，具有操作简单、准确度高、重现性好的优点。

6,7-二甲氧基香豆素作为香豆素类化合物的一种，具有多种药理活性：1) 有明显的保肝、利胆功效；2) 控制血管扩张和低血压、抑制免疫、抗动脉粥样硬化、抗心绞痛；3) 免疫抑制和降压作用。此外 6,7-二甲氧基香豆素还有抑制癌细胞增长、抗肿瘤等作用。中药茵陈具有保肝利胆、降血脂、抗凝血和抗病毒等药理作用。朱传先等应用紫外分光光度法对中药茵陈中的 6,7-二甲氧基香豆素的含量测定，并同薄层层析—紫外分光光度法作了比较。实验表明，用紫外分光光度法测定茵陈提取物中蒿属香豆素的含量较为快速、稳定、简便[11]。

何方奕等为了测定无梗五加果中总香豆素及 6,7 二甲氧基香豆素的含量，以东莨菪内酯为对照品，采用分光光度法，于 348 nm 处测定总香豆素含量。采用 HPLC 法测定 6,7 二甲氧基香豆素含量。实验结论证明该方法准确、可靠，可为无梗五加果的质量控制提供参考依据[12]。

独活为历次版本《中国药典》收录的常用中药，具有祛风除湿、通痹止痛等功效，主要用于风寒湿痹、腰膝疼痛等症。现代研究表明，香豆素类化合物是独活中所含的最主要活性成分，其中又以蛇床子素含量最高，有镇静催眠，镇痛抗炎，扩张血管，抑制血小板聚集和抗血栓形成等作用，从而产生活血通络之功效。张恭孝等以蛇床子素为对照品，采用紫外分光光度法测定了独活中总香豆素含量[13]。研究结果表明：检测波长为 322 nm，蛇床子素质量浓度在 2~12 mg/mL 范围内与吸光度呈良好线性关系($r = 0$,

$R = 0.9996$), 平均回收率 99.18% ($RSD = 1.69\%$, $n = 6$)。实验证明该方法简便易行, 结果稳定可靠, 可用于独活及其制剂的质量控制。

白芷为伞形科植物白芷或杭白芷的干燥根, 具有解表散寒、祛风止痛、宣通鼻窍, 燥湿止带、消肿排脓之功效。梁玉玲等以欧前胡素为对照品, 检测波长为 300 nm, 利用紫外-可见分光光度法检测了白芷愈伤组织和白芷药材中总香豆素的质量分数, 结果表明: 欧前胡素的质量浓度在 3.0~30.0 $\mu\text{g/mL}$ ($R = 0.999$)内与吸光度呈良好的线性关系, 白芷愈伤组织中总香豆素的质量分数是白芷药材中的 9.7 倍, 为药用植物白芷的植物生物技术开发和利用提供了依据[14]。

紫外-可见分光光度法, 操作简便, 运行成本较低, 但是采用分光光度法只能测量样品中的总香豆素含量, 不适合测定某一组分的含量, 不能适应中药复杂体系的分析的要求。

4. 色谱法

4.1. 高效液相色谱法(HPLC)

在香豆素类物质的检测中, 高效液相色谱应用最为广泛, 常配以二极管阵列检测器(DAD)、紫外检测器(UV)或者荧光检测器(FI), 选择合适的色谱柱、流动相及检测波长, 是实现分离的关键因素。目前在检测香豆素时广泛使用的是反相 C18 柱。流动相一般选择甲醇、乙腈、水和冰醋酸等, 针对不同的物质选择不同配比的流动相。

《中国药典》2010 年版规定, 欧前胡素为白芷定量指标, 但是单一指标无法满足实际需要。异欧前胡素、氧化前胡素也是白芷中的主要活性成分且含量较高, 应同时作为其质量控制的指标才更具合理性。杨芳等采用 HPLC-DAD 方法建立了川白芷中欧前胡素、异欧前胡素、氧化前胡素的“一测多评”含量测定方法, 测试过程中只用一个对照品欧前胡素同步测定川白芷中的 3 个成分。同时采用外标法作为对照。研究结果表明基于 HPLC 的“一测多评”法可以有效控制川白芷药材的质量[15]。

秦皮, 为木犀科植物苦枥白蜡树、白蜡树、尖叶白蜡树或宿柱白蜡树的干燥枝皮或干皮, 具有清热燥湿, 收涩止痢, 止带, 明目之功效。研究表明, 秦皮的主要有效成分为香豆素类化合物。叶迎等以秦皮甲素为对照品[16], 采用紫外可见分光光度法在 334 nm 测定秦皮提取物总香豆素的含量; 采用 HPLC 方法, 乙腈-0.01%磷酸溶液为流动相梯度洗脱, 在 334 nm 测定秦皮提取物中秦皮甲素、秦皮苷、秦皮乙素、秦皮素 4 种主要香豆素成分的含量。该方法简便、准确、可靠, 可用于秦皮提取物总香豆素和主要香豆素成分的质量控制。冯伟红等[17]采用 HPLC 方法以秦皮甲素为参照物建立了秦皮中秦皮苷、秦皮乙素、秦皮素的“一测多评”含量测定方法, 同时采用外标法作为对照。研究结果表明基于 HPLC 的“一测多评”法可以有效控制秦皮药材的质量。

白花蛇舌草为茜草科耳草属植物, 具有清热、解毒、消肿、止痛之功效。现主要用于抗癌治疗与研究。香豆素类化合物为其主要有效成分之一, 其中东莨菪亭和耳草酮 B 具有抑制 PC3 和 Hep G2 细胞增殖和诱导细胞凋亡的作用。于亮等采用 HPLC 方法比较不同产地白花蛇舌草中两种香豆素类成分东莨菪亭(7-羟基-6-甲氧基香豆素)和耳草酮 B 的含量[18], 研究表明江西产药材中两种香豆素类成分的含量明显高于湖北、安徽、广西其它三个产地的药材, 为完善白花蛇舌草药材质量标准提供参考依据。

在高效液相色谱的基础上发展起来的液质联用技术(HPLC-MS), 集合了质谱的高灵敏度和选择性, 以及高效液相色谱的优点, 被认为是目前效果最好的分析手段, 香豆素可以作为复杂混合物的一个或几个组分被检出。张薇等[19]采用液相色谱-串联质谱分析法对中药白芷中欧前胡素, 异欧前胡素和氧化前胡素, 北沙参中佛手柑内酯和花椒毒酚和补骨脂中补骨脂素和补骨脂定的同时测定, 考察了所建方法的线性范围、精密度、检出限和准确度, 建立了香豆素的分析检测方法。

4.2. 气相色谱法 - 质谱联用(GC-MS)

气相色谱是一种对易于挥发而不发生分解的化合物进行分离与分析的色谱技术，主要是利用物质的沸点、极性、吸附性质的差异来实现混合物的分离。香豆素物质具有挥发性，能够在气相条件下实现分离。

蛇床子为伞形科植物蛇床的干燥成熟果实。蛇床具有燥湿祛风、杀虫止痒、温肾壮阳之功效，常用于治疗阴痒带下、湿疹瘙痒、湿痹腰痛、肾虚阳痿和宫冷不孕等症。蛇床子主要含有香豆素类、黄酮类、挥发油类以及有机酸类化合物，其中香豆素类化合物是影响其药理学活性的主要因素。宋更申等采用 GC-MS 方法同时测定了 12 批不同产地蛇床子中异补骨脂素、花椒毒素、佛手柑内酯、蛇床子素、异茴芹内酯、欧前胡素和二氢欧山芹醇等 7 中香豆素的含量[20]。该方法简便、快速、灵敏度高、专属性好，为蛇床子药材的质量控制提供依据。

此外，李玲等采用 GC-MS 方法鉴定出川白芷中含有氧化前胡素、欧前胡素、异欧前胡素等 11 中香豆素，为川白芷香豆素有效部位的临床疗效与所含化学成分的相关性研究提供了科学实验依据[21]。

4.3. 毛细管电泳法(CE)

毛细管电泳是一类以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力的新型液相分离技术。高效毛细管电泳法具有分离效率高，分析时间短、运行成本低、对环境污染小等优势，目前该技术在分析香豆素物质的应用较少。张琦等建立了秦皮中主要活性成分秦皮苷、秦皮甲素、秦皮乙素的毛细管区带电泳快速同时定量方法[22]。

4.4. 超高液相色谱法(UPLC)

超高效液相色谱(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC)是在高效液相色谱法之上发展起来的，它借助于 HPLC 的理论及原理，涵盖了小颗粒填料、低系统体积及快速检测手段等全新技术，增加了分析的通量、灵敏度及色谱峰容量。

杨英来等[23]建立了超高效相液相色谱法同时测定浓缩当归丸和当归药材中光毒性化合物补骨脂素、花椒毒素和佛手柑内酯含量的方法，该方法简便、快速(10 分钟内)、精密度高、重现性好。

朱芸等[24]利用超高液相色谱法测定了分布于新疆的不同生长时期多伞阿魏中倍半萜烯香豆素的含量，研究结果表明生长在 5 月 9 日的多伞阿魏中倍半萜烯香豆素的含量最高，该方法准确可靠，重复性好，能够用于多伞阿魏的质量控制。

4.5. 超临界流体色谱法(SFC)

超临界流体色谱(supercritical fluid chromatography; SFC)以超临界流体做流动相，依靠流动相的溶剂化能力来进行分离、分析的色谱过程。超临界流体色谱兼有气相色谱和液相色谱的特点，它既可分析气相色谱不适应的高沸点、低挥发性样品，又比高效液相色谱有更快的分析速度。操作温度主要决定于所选用的流体，常用的有二氧化碳及氧化亚氮。SFC 技术在天然产物方面的分析分离应用还比较少，Pfeifer 等[25]采用 SFC 技术同时分离分析了白芷中的当归素、蛇床子素、王草素、花椒毒素、异欧前胡素、氧化前胡素、花椒毒酚和伞形花内酯 8 种香豆素，该方法非常快速，分析时间仅需要 6 分钟，而采用 GC、HPLC、CE 等方法需要 20 分钟以上。这种快速绿色的方法在天然产物分离分析方面具有独到的优势。

5. 荧光分析法

荧光分析法是根据物质的荧光光谱位置及其强度进行物质的鉴定和含量测定的仪器方法。荧光现象

与物质的分子结构和含量有关。物质的分子结构不同,发射荧光的波长也不同,据此可对物质进行定性鉴定;荧光物质的含量(浓度)不同,发射荧光的强度不同,据此可对物质进行定量分析。荧光分析法具有高灵敏度、低检测限、高时空分辨能力以及可进行实时原位检测等优势,已广泛应用于化学、生命、环境、食品、医药分析等领域[26]。荧光光谱包括普通的二维荧光光谱和三维荧光光谱。二维荧光光谱指的是固定激发波长扫描发射波长所得的发射光谱和固定发射波长扫描激发波长所得的激发光谱。而三维荧光光谱反映了发光强度同时随激发波长和发射波长变化的情况,使三维荧光图谱能够完整的描述物质混合体系的全部荧光信息,使之成为光谱识别、表征的必要条件。还可以从更完全的信息中寻找选择性区域,对一个含多组分的荧光光谱重叠的对象,来解决组分之间的干扰问题。三维荧光光谱分析法作为一类混合物体系同时综合分析的优势分析方法,具有分析速度快,结果可靠稳定、信息丰富、适于现场操作等优点,不仅能够一定程度上对混合体系中特定的一些物质作定性定量分析,而且能够对混合体系的整体特征进行刻画[27] [28] [29]。

香豆素的多种衍生物有荧光现象,更具有荧光量子产率高和光稳定性好等优点。近年来,香豆素类荧光染料及荧光探针倍受关注,是目前化学、环境和生命科学等领域中研究与应用的一类重要荧光材料,为香豆素的荧光分析检测方法提供基础。

李云等[30]系统研究了秦皮中秦皮甲素和秦皮乙素的荧光光谱性质和紫外-可见吸收光谱性质,利用秦皮甲素和秦皮乙素在不同 pH 条件下荧光性质的差异性,建立了中药秦皮中同时测定这两种香豆素的荧光分析方法,分别利用标准曲线法和标准加入法测定了秦皮甲素和秦皮乙素在中药秦皮中的含量。

吴海龙等[31]采用三维荧光分析结合交替三线性分解算法对秦皮中药成分秦皮甲素和秦皮乙素进行定性定量分析,多次测定结果的相对误差分别为 2.01%和 2.21%,由于中药成分比较复杂,利用色谱方法分离时需要摸索最佳的分离条件,耗时耗力;而传统的二维荧光光谱法,由于中药中其他组分荧光光谱的干扰,无法直接测定。该方法克服了传统色谱法和荧光法的优点,为直接测定秦皮甲素和秦皮乙素提供了一种快速简洁的方法。

藏药绵头雪兔子(学名: *Saussurea laniceps*)为菊科风毛菊属的植物,是中国的特有植物。具有除寒,壮阳,填精,止血等功效。常用于雪盲,牙痛,风湿关节痛,阳痿,月经不调,崩漏,带下病等症治疗。研究表明伞形花内酯,东莨菪亭等为藏药绵头雪兔子和中药独活的主要活性成分。吴海龙等[32]采用三维荧光分析结合交替三线性分解算法对伞形花内酯,东莨菪亭这两种香豆素进行了同时测定,检测限分别为 $0.06 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.16 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。并采用 HPLC-DAD 方法对实验结果进行了验证,结果表明,相对于 HPLC-DAD 分析方法,该方法快速,灵敏度高,运行成本较低,为藏药绵头雪兔子和中药独活的质量标准控制提供新的方法。

6. 荧光成像法

激光扫描共聚焦显微镜(Confocal laser scanning microscope, CLSM)综合普通光学显微镜和荧光显微镜的功能,并配备微机数字化分析系统和电子摄影系统,是近代最先进的细胞生物医学分析仪器之一。它使用紫外光或可见光激发荧光物质,利用计算机进行图像处理,不仅可观察固定的细胞、组织切片,还可对活细胞的结构、分子、离子进行实时动态地观察和检测。目前,激光扫描共聚焦显微技术已用于细胞形态定位、立体结构重组、动态变化过程等研究,并提供定量荧光测定、定量图像分析等实用研究手段。结合其他相关生物技术,该成像技术已经在形态学、生理学、免疫学、遗传学等分子细胞生物学领域得到广泛应用[33] [34] [35]。近年来,激光扫描共聚焦显微在植物学中也取得了系列进展,成功应用于植物中某些荧光成分的分析 and 组织定位。近年来,激光扫描共聚焦显微成像技术在植物中香豆素的荧光成像分析方面也取得一些进展[36] [37] [38] [39]。

球花石斛为传统名贵中药,香豆素类化合物为其主要有效成分之一,该类成分具有松弛平滑肌、扩张血管及抗凝血等功效。石斛以茎入药,叶和根在药材采收加工过程中废弃。郑艳等以大黄素、泽兰内酯、东莨菪内酯和滨蒿内酯这四种香豆素为参照,首先利用激光扫描共聚焦显微成像技术观察了二月份采收的球花石斛 1~3 龄茎的基部、中部和顶部的香豆素的含量变化情况[40]。所记录数据经正态性、方差齐性检验后进行方差分析,并使用 Tukey's 检验做多重比较。结果表明香豆素类成分主要分布在球花石斛茎的维管束部位并以维管束外侧纤维的壁较多。然后他们又采用该方法观察了球花石斛营养生长期和生殖生长期的叶、根中香豆素的含量[41]。球花石斛的叶除叶脉近上、下表皮处的维管束纤维群外,其他部位均有香豆素类成分的存在。球花石斛根的各部位均有香豆素类成分存在,尤其在皮层以内细胞的壁和壁内周。球花石斛叶、根的香豆素类成分的相对含量在生殖生长中的盛花期均高于营养生长期;在生殖生长进入始果期二者均几无香豆素类成分分布。该方法实现了对香豆素成分的组织定位和相对定量分析,为合理评价和利用药用球花石斛提供了科学依据。

明党参 *Changiummyrnioides* Wolff 为历版《中国药典》的名贵中药,是我国特有的伞形科(Umbelliferae)明党参属(*Changium*)的单种属植物,具有润肺化痰、养阴和胃、平肝解毒之效。香豆素类化合物为其主要有效成分之一,张莹等以珊瑚菜内脂为对照,利用激光扫描共聚焦显微成像技术考察了明党参不同器官中香豆素含量的组织定位、分布及相对含量变化规律[42]。研究表明党参根、茎、叶、果实中均含香豆素类成分,分泌道是明党参中香豆素积累的主要场所。研究结果为科学评价、合理采收及利用明党参提供依据。

7. 结语与展望

目前药用植物中香豆素的分离分析方法主要是 HPLC、HPLC-MS 和 GC-MS 方法,这是因为该方法能够很好的满足定性和定量的要求。在 HPLC 基础上发展起来的 UPLC 技术一种快速分离分析方法,能够大大缩短分析时间,提高分析通量。但是色谱操作繁琐,需要训练有素的仪器操作人员,分析运行成本较高。荧光分析法具有高灵敏度、低检测限和操作简单等优势,可以直接对某些香豆素进行定量分析。对于复杂样品还可以采用荧光光谱法与化学计量学相结合的方法,对目标组分进行定性定量分析。此外,三维荧光光谱分析法作为一类混合物体系同时综合分析的优势分析方法,还可以用于含有多种荧光香豆素的样品分析和含量测定。激光扫描共聚焦显微荧光成像技术能够实现植物不同器官中香豆素含量的组织定位、分布及相对含量变化测定。荧光分析与荧光成像技术在药用植物中香豆素的分析方面可能有广阔的应用前景。

基金项目

甘肃农业大学伏羲青年新秀引进人才项目(GSAU-RCZX201704)和甘肃农业大学学生科研训练计划项目(SRTP20170103 & 20170104)资助。

参考文献 (References)

- [1] Tejada, S., Martorell, M., Capo, X., *et al.* (2017) Coumarin and Derivates as Lipid Lowering Agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **17**, 391-398.
- [2] Hassan, M.Z., Osman, H., Ali, M.A., *et al.* (2016) Therapeutic Potential of Coumarins as Antiviral Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **123**, 236-255.
- [3] de Souza, L.G., Renna, M.N. and Figueroa-Villar, J.D. (2016) Coumarins as Cholinesterase Inhibitors: A Review. *Chemico-Biological Interactions*, **254**, 11-23.
- [4] Thakur, A., Singla, R. and Jaitak, V. (2015) Coumarins as Anticancer Agents: A Review on Synthetic Strategies, Mechanism of Action and SAR Studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **101**, 476-495.

- [5] Venugopala, K.N., Rashmi, V. and Odhav, B. (2013) Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Research International*, Article ID: 963248.
- [6] 孔令义. 香豆素化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [7] 万碧秋, 文奋武, 张德寿, 等. 草木樨中双香豆素的分光光度法测定[J]. 中国草原与牧草, 1985, 2(2): 65-67.
- [8] 乌云, 韩雪松, 张建华, 等. 草木樨种籽中香豆素、双香豆素含量的分析[J]. 中国草地, 1998, 1: 36-38.
- [9] 朱美晓, 陈燕, 易进海, 等. 羌活药材薄层色谱鉴别与含量测定[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(1): 116-117.
- [10] 陈燕, 易进海, 刘云化, 等. 中药羌活质量标准研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 5(30): 945-949.
- [11] 朱传先, 代静, 朱果. 6,7 二甲氧基香豆素的含量测定[J]. 中成药, 1986, 1: 30-32.
- [12] 何方奕, 韩颖, 刘曼. 无梗五加果中总香豆素和 6,7 二甲氧基香豆素的含量测定[J]. 沈阳医科大学学报, 2006, 23(1): 18-21.
- [13] 张恭孝, 李聚仓, 王德才. 独活中总香豆素组分的含量测定[J]. 中华中医学刊, 2010, 28(12): 2647-2648.
- [14] 梁玉玲, 鲜于梁艳, 陈子龙. 白芷愈伤组织中总香豆素的提取与测定[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2014, 34(3): 290-294.
- [15] 杨芳, 万丽, 胡一晨, 等. 一测多评法测定白芷药材中 3 种香豆素成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 956-960.
- [16] 叶迎, 柏冬, 包强, 等. 秦皮提取物中香豆素类成分含量测定方法研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(8): 83-87.
- [17] 冯伟红, 王智民, 张启伟, 等. 一测多评法测定秦皮药材与饮片中香豆素类成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(13): 1782-1789.
- [18] 于亮, 吕青涛, 黄祝刚, 等. HPLC 法比较不同产地白花蛇舌草中两种香豆素类成分的含量[J]. 现代仪器与医疗, 2015, 21(3): 85-87.
- [19] 张薇. 三种中药中香豆素类化合物的 HPLC-MS 法测定[D]: [硕士学位论文]. 上海: 东华大学, 2012.
- [20] 宋更申, 徐艳梅, 周丽, 等. GC-MS 法同时测定蛇床子中 7 种香豆素类活性成分[J]. 药学学报, 2016, 51(4): 626-630.
- [21] 李玲, 李祖伦, 何宇新, 等. 川白芷香豆素有效部位的气相色谱-质谱分析[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 306-307.
- [22] 张琦, 张新申, 代勇. 3 种秦皮香豆素的毛细管区带电泳快速分析[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(16): 1269-1272.
- [23] 杨英来, 杨涛, 杨玉华, 等. 超高效液相色谱法测定浓缩当归丸和当归药材中光毒性化合物香豆素[J]. 分析化学, 2013, 41(11): 1744-1748.
- [24] 朱芸, 张珂, 梁旭, 等. UPLC 测定多伞阿魏中倍半萜香豆素(DAW22)的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(19): 63-65.
- [25] Pfeifer, I., Murauer, A. and Ganzera, M. (2016) Determination of Coumarins in the Roots of *Angelica dahurica* by Supercritical Fluid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **129**, 246-251.
- [26] 许金钧, 王尊本. 荧光分析法(第三版)[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [27] Lakowicz, J.R. (2006) Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer Link. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>
- [28] 魏永巨. 中药三维荧光检验法[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- [29] 史训立, 张琳, 胡家文. 3 维荧光应用于中药检测一些问题的探讨[J]. 光谱实验室, 2013, 30: 1152.
- [30] 李云. 中药秦皮及其有效成分的荧光分析方法研究[D]: [硕士学位论文]. 石家庄: 河北师范大学, 2007.
- [31] 孙翔宇, 吴海龙, 陆剑忠, 等. 三维荧光光谱法结合交替三线性分解算法同时分辨及定量测定秦皮中的秦皮甲素和秦皮乙素成分[J]. 分析科学学报, 2005, 21(2): 149-151.
- [32] Wang, L., Wu, H.L., Yin, X.L., et al. (2017) Simultaneous Determination of Umbelliferone and Scopoletin in Tibetan Medicine *Saussurea laniceps* and Traditional Chinese Medicine *Radix Angelicae pubescentis* using Excitation-Emission Matrix Fluorescence Coupled with Second-Order Calibration Method. *Spectrochimica Acta Part A*, **170**, 104-110.
- [33] Földes-Papp, Z., Demel, U. and Tilz, G.P. (2003) Laser Scanning Confocal Fluorescence Microscopy: An Overview. *International Immunopharmacology*, **3**, 1715-1729.
- [34] 李叶, 黄华平, 林培群, 等. 激光扫描共聚焦显微镜[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(7): 262-269.
- [35] 杨子贤, 王洪星, 易小平. 激光扫描共聚焦显微镜在生物科学中的应用[J]. 热带生物学报, 2013, 4(1): 99-104.

- [36] 王健, 杨青, 孟庆杰. 激光扫描共聚焦显微镜在园艺植物研究中的应用[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(3): 7-8.
- [37] 张莹, 谷巍, 陈建伟. 激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)在植物细胞学中的应用[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(2): 195-197.
- [38] 贾鹏飞. 激光共聚焦和双光子显微镜对细胞成像和植物细胞 Cytomixis 的研究[D]: [博士学位论文]. 兰州: 兰州大学, 2010.
- [39] 薛秀花, 张晓嫣, 郑东, 等. 激光共聚焦显微成像技术在植物细胞微丝骨架三维动态观察中的应用[J]. 现代仪器, 2010(5): 50-54.
- [40] 郑艳, 徐珞珊, 王峥涛, 等. 球花石斛茎中香豆素类成分的定位和相对定量[J]. 药学学报, 2005, 40(3): 236-240.
- [41] 郑艳, 徐珞珊, 王峥涛, 等. 香豆素类成分在球花石斛 *Dendrobiumthyriflorum* 叶和根中的分布与动态变化[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1071-1074.
- [42] 张莹, 陈建伟, 徐建亚, 等. 明党参中香豆素成分的组织定位、分布和荧光相对定量研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 625-627.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org