

去核对余甘子药材质量的影响

罗传红¹, 黄胜杰¹, 胡琪琪¹, 谭鹏², 苟桦梅¹, 魏夕川¹, 黄浩洲¹,
樊三虎³, 林俊芝⁴, 张定堃^{1*}, 韩丽^{1*}

- (1. 成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137;
2. 四川省中医药科学院 国家中医药管理局中药质量生物评价重点实验室, 成都 610041;
3. 成都市三勒浆药业集团, 成都 610000; 4. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

[摘要] 目的:通过化学分析和体外试验考察余甘子果核、果肉间化学成分和药理活性的差异,探究果核对余甘子药材质量的影响。方法:基于现有数据库对余甘子与去核余甘子(余甘子肉)进行文献、药材标准、市场调研;应用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)技术对果核、果肉进行化学成分鉴定,流动相选择0.1%甲酸水溶液(A)和甲醇(B)梯度洗脱(0~25 min, 5%B; 25~30 min, 5%~95%B; 30~35 min, 95%~5%B),流速0.2 mL·min⁻¹;选择加热电喷雾离子源(HESI),正、负离子模式检测,扫描范围 m/z 100~1 500。利用高效液相色谱法(HPLC)测定余甘子果核、果肉中没食子酸、柯里拉京、河黎勒酸和鞣花酸的含量,流动相甲醇(A)-0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~6 min, 5%A; 6~15 min, 5%~7%A; 15~20 min, 7%~15%A; 20~25 min, 15%~21%A; 25~31 min, 21%~22%A; 31~41 min, 22%A; 41~47 min, 22%~28%A; 47~51 min, 28%~32%A; 51~57 min, 32%~38%A; 57~70 min, 38%~45%A; 70~80 min, 45%~65%A; 80~85 min, 65%~5%A),检测波长270 nm。通过滤纸片法考察余甘子果核、果肉对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌的抗菌作用,运用1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)自由基清除试验比较余甘子果核、果肉的抗氧化活性。结果:从余甘子果核、果肉中共鉴定出了47种化合物,主要包括鞣质类、黄酮类、酚酸类、脂肪酸类、氨基酸类、有机酸类、糖及糖苷类化合物,大部分有效成分主要集中在果肉,果核中脂肪酸类成分占比较高。HPLC含量测定结果显示20批余甘子药材果肉中没食子酸、柯里拉京、河黎勒酸、鞣花酸等多酚类化合物含量远远高于果核;抗菌试验结果显示不同浓度余甘子果核均不具有抗菌作用;DPPH自由基清除试验结果表明果核[半抑制浓度(IC₅₀)=199.632 mg·L⁻¹]的抗氧化作用远小于果肉(IC₅₀=12.688 mg·L⁻¹)。结论:从多酚含量与抗菌、抗氧化活性来看,古代和现今采用余甘子肉具有一定的科学性,这可能是为了去除余甘子质次部分,以增强临床治疗效果。同时,鉴于余甘子果核占比较大,且含有较高的脂肪酸等成分,在实际临床应用中是否去核使用还有待于深入研究确认。

[关键词] 余甘子; 去核; 高效液相色谱法(HPLC); 抗菌; 抗氧化; 中药材

[中图分类号] R22;R28;R93;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)09-0147-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210147

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201105.1327.001.html>

[网络出版日期] 2020-11-6 10:44

Effect of Removing Core on Quality of Phyllanthi Fructus

LUO Chuan-hong¹, HUANG Sheng-jie¹, HU Qi-qi¹, TAN Peng², GOU Hua-mei¹, WEI Xi-chuan¹,
HUANG Hao-zhou¹, FAN San-hu³, LIN Jun-zhi⁴, ZHANG Ding-kun^{1*}, HAN Li^{1*}

- (1. School of Pharmacy, State Key Laboratory of Characteristic Chinese Drug Resources in Southwest China, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;
2. State Key Laboratory of Biological Evaluation of TCM Quality, National Administration of TCM, Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China;

[收稿日期] 20200907(022)

[基金项目] 四川省中医药标准化研究项目(2019073);国家自然科学基金项目(81973493);成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划项目(QNXZ2018003);成都中医药大学中药学学科特色创新科研团队项目(CXTD2018006)

[第一作者] 罗传红,在读硕士,从事中药炮制与制剂研究,E-mail:1379034021@qq.com

[通信作者] *张定堃,副教授,从事中药炮制与制剂研究,E-mail:465790643@qq.com;

*韩丽,教授,从事中药炮制与制剂研究,E-mail:2900480797@qq.com

3. Sanajon Pharmaceutical Group, Chengdu 610000, China;

4. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective:** The differences of chemical compositions and pharmacological activities between the core and pulp of *Phyllanthi Fructus* were investigated by chemical analysis and *in vitro* test to explore the effect of the core on the quality of this medicinal material. **Method:** Literature, medicinal material standards and market research on the appearance of *Phyllanthi Fructus* were conducted based on existing databases. Ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) was used to identify the constituents of the core and pulp. The analysis was performed on Thermo Scientific Accucore C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 2.6 μm) with the mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution (A)-methanol (B) for gradient elution (0-25 min, 5%B; 25-30 min, 5%-95%B; 30-35 min, 95%-5%B), the flow rate was 0.2 mL·min⁻¹, heating electrospray ionization (HESI) was adopted with positive and negative ion modes, and the scanning range was *m/z* 100-1 500. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the contents of gallic acid, corilagin, chebulagic acid and ellagic acid in the core and pulp of *Phyllanthi Fructus*. Analysis was performed on Welchrom C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with mobile phase of methanol (A)-0.05% phosphoric acid aqueous solution (B) for gradient elution (0-6 min, 5%A; 6-15 min, 5%-7%A; 15-20 min, 7%-15%A; 20-25 min, 15%-21%A; 25-31 min, 21%-22%A; 31-41 min, 22%A; 41-47 min, 22%-28%A; 47-51 min, 28%-32%A; 51-57 min, 32%-38%A; 57-70 min, 38%-45%A; 70-80 min, 45%-65%A; 80-85 min, 65%-5%A), the detection wavelength was set at 270 nm. The antibacterial effects of the core and pulp of *Phyllanthi Fructus* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were investigated by filter paper method, and their antioxidant activities were compared by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay. **Result:** A total of 47 compounds were identified in the core and pulp of *Phyllanthi Fructus*, mainly including tannins, flavonoids, phenolic acids, fatty acids, amino acids, organic acids, saccharides and glycosides, most of which were concentrated in the pulp, and the fatty acids in the core accounted for a higher proportion. The contents of gallic acid, corilagin, chebulagic acid, ellagic acid and other phenolic compounds in the pulp of 20 batches of *Phyllanthi Fructus* were much higher than those in the core. The results of antibacterial test showed that the core of *Phyllanthi Fructus* with different concentrations had no antimicrobial effect. The DPPH radical scavenging test showed that the antioxidant activity of the core [half-inhibitory concentration (IC₅₀)=199.632 mg·L⁻¹] was much less than that of the pulp (IC₅₀=12.688 mg·L⁻¹). **Conclusion:** From the perspectives of polyphenol content, antibacterial and antioxidant activities, it is scientific to use *Phyllanthi Fructus* pulp in ancient and modern times, which may be to remove the secondary parts of *Phyllanthi Fructus*, so as to enhance the actual utilization rate and therapeutic effect of medicinal materials. In view of the large proportion of the core of *Phyllanthi Fructus* and its high content of fatty acids and other components, whether or not to use it remains to be further studied in clinical application.

[Key words] *Phyllanthi Fructus*; removing core; high performance liquid chromatography (HPLC); antibacterial activity; antioxidant activity; Chinese medicinal materials

余甘子, 俗名油甘子、庵摩勒、滇橄榄、喉甘子等, 因其入口酸涩, 回味甘甜, 故名余甘, 功能清热凉血、消食健胃、生津止咳, 主要用于治疗血热血瘀、消化不良、腹胀、咳嗽、喉痛及口干等^[1]。有研究表明, 水解单宁是余甘子中主要生物活性成分, 其果实中含有没食子酸、鞣花酸、柯里拉京、诃黎勒酸

等丰富的多酚化合物^[2]。现代药理研究证实, 余甘子多酚有抗氧化、抗菌、抗疲劳、护肝益肾、免疫调节、降血糖、抗癌、抗病毒等作用^[3-8]。余甘子为川产特色药材、药食同源品种及攀西地区产业扶贫重点支撑品种, 具有大品种培育与开发价值。

中药材需经过炮制后才可应用于临床, 例如,

余甘子在产地加工时,部分会经过去核的方法净制后再流通进入市场或应用于临床。目前,余甘子在国内主要以未去核的统货(余甘子)和去核的余甘子肉2种方式进行销售,但二者价格无明显差异。余甘子肉与余甘子在临床上均有应用,但二者并未严格区分,2020年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)仅收录了余甘子,并未对余甘子肉有所规定。余甘子果核所占比重将近一半,去核与否必然会对药材实际利用率及临床疗效造成影响。然而,关于余甘子果核、果肉间化学成分和药理活性的差异尚未见报道。基于此,本研究拟采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)分析余甘子果核、果肉的主要化学成分,采用HPLC测定余甘子果肉、果核中有效成分没食子酸、鞣花酸、柯里拉京、诃黎勒酸的含量,并通过体外试验考察余甘子果肉、果核的抑菌活性及抗氧化作用,以明确余甘子果核对药材有效成分含量及活性的影响,有利于引导市场优质优价,为该药材的临床用药及标准制订提供一定科学依据,同时为余甘子药用加工提供数据支撑,助力余甘子产业及大健康产品的科学发展。

1 材料

Vanquish型超高效液相色谱联用Q-Exactive型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪和U3000型超高效液相色谱仪(美国赛默飞公司),BSA224S型

1/1万分析天平和BT25S型1/10万分析天平(德国Sartorius公司),Milli-Q型超纯水仪(美国Millipore公司),SpectraMax iD5型多功能微孔读板机[美谷分子仪器(上海)有限公司],L550型台式低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

没食子酸、柯里拉京、鞣花酸对照品(成都普瑞法科技开发有限公司,批号分别为4051109, PRF7102406, PRF7101305,纯度均 $\geq 98\%$),诃黎勒酸、诃子次酸、槲皮素、三没食子酰葡萄糖、原儿茶酸对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为CHB171222, CHB190107, CHB190117, CHB-S-235, CHB170822,纯度均 $\geq 98\%$),熊果酸、油酸、亚油酸对照品(成都普思生物科技股份有限公司,批号PS010039, PS20190843, PS20190832,纯度分别为 $\geq 98\%$, $\geq 97\%$, $\geq 97\%$),1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH,上海蓝季科技发展有限公司,批号190125,纯度 $\geq 97\%$),水为超纯水,甲醇、甲酸为色谱级,其他试剂均为分析纯。

20批余甘子购于四川中庸药业有限公司、河北安国药材市场、安徽亳州中药材市场及成都荷花池中药材市场,经成都中医药大学药学院张定堃副教授鉴定为大戟科植物余甘子 *Phyllanthus emblica* 的干燥成熟果实。分离各批余甘子样品的果肉和果核(保证果肉与果核之间的过渡区完全去除),见图1。样品来源信息见表1。



图1 余甘子的果核、果肉、果实

Fig. 1 Core, pulp and fruit of *Phyllanthi Fructus*

2 方法与结果

2.1 去核与不去核的相关文献调研与市场调研

2.1.1 本草文献分析 余甘子始载于《新修本草》,记载“摩勒,味苦、甘,寒,无毒。主风虚热气。一名余甘。生岭南交、广、爱等州。树叶细,似合欢,花黄,子似李、柰,青黄色,核圆作六、七棱,其中仁亦入药用。”通过考究历代本草相关记载,发现余甘子存在去核、不去核2种使用情况。《四时纂要》记载了三勒浆酿制方法:“诃梨勒、毗梨勒、庵摩勒,已上并

和核用,各三大两。捣如麻豆大,不用细”。明代《普济方》记载:“饮灵丸(出卫生家宝方),治中暑神效……余甘子(去核二味各一两半无余甘以百药代煎)……”。由此可知,余甘子存在果肉单独入药及果实带核入药的可能。

2.1.2 市场与标准调研 2019年12月,本课题组成员实地走访了云南永仁余甘子产区、荷花池药材市场,实地查看了余甘子的采收、加工、等级划分情况。目前在市场流通中,余甘子在国内均以未去核

表1 余甘子样品来源信息

Table 1 Details of Phyllanthi Fructus samples

编号	批号	产地	来源	采收时间
S1	190601	四川甘孜藏族自治州	四川中庸药业有限公司	2018-12
S2	FG	福建	河北安国药材市场	2018-09
S3	YN	云南曲靖市陆良县	安徽亳州药材市场	2018-09
S4	XC17	四川凉山彝族自治州	成都荷花池药材市场	2017
S5	MD1	缅甸	成都荷花池药材市场	2018
S6	PY2018	云南普洱	安徽亳州药材市场	2018-08
S7	MD18	云南缅甸交界处	成都荷花池药材市场	2018-12
S8	LS	四川凉山彝族自治州	成都荷花池药材市场	2017
S9	DST2018	云南	安徽亳州药材市场	2018-08
S10	MD19	缅甸	成都荷花池药材市场	2019
S11	GD19	广东	河北安国药材市场	2019
S12	GX19	广西	成都荷花池药材市场	2019-11
S13	YN19	云南	安徽亳州药材市场	2019-01
S14	GX192	广西	河北安国药材市场	2019
S15	JX19	江西	安徽亳州药材市场	2019-10
S16	YN192	云南楚雄彝族自治州元谋县	安徽亳州药材市场	2019
S17	YN193	云南	安徽亳州药材市场	2019
S18	GZ19	江西赣州	安徽亳州药材市场	2019-01
S19	CX19	云南楚雄彝族自治州	安徽亳州药材市场	2019
S20	YN194	云南	安徽亳州药材市场	2019

的统货、去核的余甘子肉2种方式为主进行销售,选货极少;市场价格为4~30元/kg,统货与余甘子肉价格无显著差异,且价格与去核与否并无关联。余甘子早在1985年就被收载于《中国药典》、《印度药典》《藏药标准》(西藏、青海、四川、甘肃、云南、新疆卫生局合编)和一些地方标准。国内标准对是否去核无明确规定,而2010年版《印度药典》要求采用去核余甘子^[9],具体见表2。

2.1.3 中成药标准调研 余甘子在使用过程中有去核与未去核2种情况。在食品方面,因果核含多种脂肪酸,影响风味并易出现沉淀,且果核坚硬,使得榨汁机榨汁能力低,故余甘子果汁、果酒、果粉等均采用了去核余甘子。在医药用途中,总共有81个中成药使用了余甘子,其中有10个处方明确要求使用去核余甘子,见表3。

2.2 余甘子果核与果肉的比例研究 随机选取3批带核余甘子,每批随机取10粒,果肉、果核分离,采用电子天平分别称重,记录,见表4。描述性统计分析结果显示,余甘子药材中果核占比在25%~53%,平均占比约41%,提示有必要进一步研究果

表2 余甘子药材标准收载情况

Table 2 Collection status of standards of Phyllanthi Fructus

标准	是否去核	备注
2020年版《中国药典》(一部)	否	
2004年版《广东省中药材标准》(第一册)	否	鲜余甘子
《香港中药材标准》第五期	否	
2010年版《印度药典》	是	
《藏药标准》	否	
2005年版《安徽省中药饮片炮制规范》	否	
2006年版《重庆市中药饮片炮制规范及标准》	否	
2010年版《湖南中药饮片炮制规范》	否	
2015年版《四川省中药饮片炮制规范》	否	余甘子片
2009年版《甘肃省中药炮制规范》	否	配制软膏剂时去核

肉、果核的化学成分及药理作用差异。

2.3 余甘子果肉、果核中主要成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS分析

2.3.1 检测条件 Thermo Scientific Accucore C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.6 μm),流动相0.1%甲酸水溶液(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~25 min, 5%B; 25~

表3 采用去核余甘子的中成药及其对应标准

Table 3 Chinese patent medicines and their corresponding standards with removing core of Phyllanthi Fructus

编号	中成药	标准
1	七味血病丸	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)
2	三十五味沉香丸	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)
3	三果汤口服液	《国家药品标准·新药转正标准》(第72册)
4	三果汤含片	《国家药品标准·新药转正标准》(第71册)
5	三果汤散	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)
6	三果汤胶囊	《国家药品标准·新药转正标准》(第70册)
7	二十五味马宝丸	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)
8	十二味奇效汤散	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)
9	十五味雏凤散	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)
10	清肺止咳丸	《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册)

表4 3批余甘子果核、果肉、果实的质量 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Weights of core, pulp and fruit of 3 different batches of Phyllanthi Fructus ($\bar{x} \pm s, n=10$)

编号	果核	果肉	果实
S5	0.42±0.09	0.71±0.21	1.13±0.27
S6	0.47±0.07	0.63±0.17	1.12±0.23
S9	0.41±0.07	0.61±0.36	1.02±0.41

30 min, 5%~95%B; 30~35 min, 95%~5%B), 流速 0.2 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 5 μL。采用加热电喷雾离子源(HESI), 正、负离子模式检测, 喷雾电压 3.0 kV, 离子源温度 350 °C, 鞘气流速 35 arb, 辅助气流速 10 arb, 离子传输管温度 320 °C, 扫描范围 m/z 100~1 500。

2.3.2 对照品溶液的制备

表5 余甘子果核、果肉化学成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS鉴定

Table 5 Identification of chemical components in core and pulp of Phyllanthi Fructus by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

化合物	t_R /min	名称	分子式	准分子离子	δ /ppm	主要二级碎片离子	丰度比值 ⁴⁾
1	2.167	没食子酸 ¹⁾	C ₇ H ₆ O ₅	169.013 6 [M-H] ⁻	0.8	125.023 5	4.11
2	11.597	鞣花酸 ¹⁾	C ₁₄ H ₆ O ₈	300.998 9 [M-H] ⁻	1.4	226.998 7	34.01
3	7.787	柯里拉京 ¹⁾	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	633.073 1 [M-H] ⁻	0.5	300.999 0	11.43
4	9.038	诃黎勒酸 ¹⁾	C ₄₁ H ₃₀ O ₂₇	953.089 9 [M-H] ⁻	0.3	300.999 2	81.39
5	1.162	诃子次酸 ¹⁾	C ₁₄ H ₁₂ O ₁₁	355.031 6 [M-H] ⁻	3.8	337.020 4	8.07
6	6.185	二没食子酰葡萄糖 ¹⁾	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.078 0 [M-H] ⁻	1.1	169.013 5	11.99
7	26.005	γ-亚麻酸 ¹⁾	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	279.231 5 [M+H] ⁺	3.2	81.070 4	0.19

里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸、诃子次酸、三没食子酰葡萄糖、槲皮素、油酸、亚油酸、熊果酸、原儿茶酸对照品适量, 分别置于不同的 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇(鞣花酸用甲醇溶解)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度分别为 1.404, 0.728, 0.532, 0.338, 0.702, 0.497, 0.836, 0.348, 0.543, 0.621, 0.741 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备^[10] 分别取余甘子果核、果肉粉末(过 3 号筛, 下同)约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 30 mL, 称定质量, 超声 20 min(300 W, 40 kHz, 下同), 放冷, 加 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.3.4 化学成分鉴定 使用 Xcalibur 3.0 软件进行质谱数据处理, 将二级碎片实测谱图与 mzCloud 网络数据库、本地中药成分数据库 OTCML 进行匹配, 再结合相关文献及在线数据库[MassBank, 人类代谢组数据库(HMDB)]进一步分析和鉴定。根据对照品裂解规律分析, 鉴定出了共 11 种化合物。其余化合物通过二级碎片比对鉴定分析得出。在余甘子果肉、果核共鉴定了 47 种化合物, 共有成分 36 种, 见表 5。结果显示, 余甘子中主要含有鞣质类、黄酮类、酚酸类、脂肪酸类、氨基酸类、有机酸类、糖及糖苷类化合物, 此外还含有少量木脂素、香豆素类化合物。但果核、果肉间化学成分差异不大, 这可能是由于鲜果状态下物体间的长期互相浸润引起的。比较果核、果肉中共有化合物丰度大小, 发现大部分有效成分如鞣质类、黄酮类、氨基酸类化合物集中在果肉, 果核中主要含亚油酸等脂肪酸类化合物。有研究表明, 多酚类化合物是余甘子关键生物活性成分^[2, 11], 根据结果统计, 余甘子共含有 17 个多酚类成分(主要包括鞣质类、黄酮类), 果肉中多酚类化合物丰度普遍大于果核, 最高差异达到了 81.39 倍。

续表5

化合物	t_R /min	名称	分子式	准分子离子	δ /ppm	主要二级碎片离子	丰度比值 ⁴⁾
8	1.101	蔗糖 ¹⁾	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.108 6 [M-H] ⁻	0.7	179.055 4, 161.044 3	0.03
9	12.451	槲皮苷 ¹⁾	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.095 1 [M-H] ⁻	5.2	301.034 6	4.91
10	5.676	没食子酸甲酯 ¹⁾	C ₈ H ₈ O ₅	183.029 4 [M-H] ⁻	0.2	95.012 9, 124.015 7	12.69
11	1.113	精氨酸 ¹⁾	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	175.118 9 [M+H] ⁺	3.6	132.958 4	0.06
12	7.504	三没食子酰葡萄糖 ¹⁾	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.090 5 [M-H] ⁻	3.2	483.087 6, 193.014 2, 169.013 7	18.27
13	1.107	L-缬氨酸 ¹⁾	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 5 [M+H] ⁺	3.0	72.081 4, 55.054 8	1.88
14	25.936	monolinolein ¹⁾	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	355.283 2 [M+H] ⁺	4.5	67.054 9, 81.070 5	0.35
15	12.451	槲皮素 ¹⁾	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.049 6 [M+H] ⁺	2.8	153.018 3, 229.049 6	5.18
16	23.380	9-oxooctadeca-10,12-dienoic acid ¹⁾	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	295.226 6 [M+H] ⁺	2.5	277.216 2	0.21
17	1.538	L-焦谷氨酸 ¹⁾	C ₅ H ₇ NO ₃	130.050 1 [M+H] ⁺	2.6	84.045 0	8.24
18	27.580	熊果酸 ¹⁾	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	457.366 8 [M+H] ⁺	3.0	191.179 5, 439.357 1	19.99
19	26.668	亚油酸 ¹⁾	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.233 1 [M-H] ⁻	2.4	279.233 1	0.06
20	11.403	异槲皮苷 ¹⁾	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.089 4 [M-H] ⁻	3.6	301.035 9	8.30
21	4.555	苹果酸 ¹⁾	C ₄ H ₆ O ₅	133.013 4 [M-H] ⁻	2.0	115.002 8	8.15
22	27.417	油酸 ¹⁾	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	281.248 5 [M-H] ⁻	1.3	281.248 5	1.13
23	1.892	异亮氨酸 ¹⁾	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.102 0 [M+H] ⁺	3.5	69.070 5, 86.097 0	0.51
24	1.552	4-氧代脯氨酸 ¹⁾	C ₅ H ₇ NO ₃	128.034 5 [M-H] ⁻	2.7	52.197 0	3.32
25	3.143	L-苯丙氨酸 ¹⁾	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.086 1 [M-H] ⁻	4.1	120.081 0	0.38
26	7.785	quercetin-3-O-glucuronide ¹⁾	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	477.067 2 [M-H] ⁻	0.6	300.999 5	20.29
27	9.344	花旗松素 ¹⁾	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	305.066 0 [M+H] ⁺	0.6	149.023 5, 153.018 4, 231.065 4	11.02
28	12.135	橄榄苦苷 ¹⁾	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	539.177 4 [M-H] ⁻	1.7	59.012 8, 68.997 3	0.14
29	8.557	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-(3-benzoyloxy-2-hydroxypropoxy)-3,4,5-trihydroxyoxane-2-carboxylic acid ¹⁾	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	371.098 9 [M-H] ⁻	2.8	113.023 8, 121.028 7, 249.061 7	5.11
30	13.743	阿福豆苷 ¹⁾	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 0 [M-H] ⁻	0.5	255.030 6, 285.040 4	4.04
31	8.364	3-O-阿魏酰奎尼酸 ¹⁾	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	367.102 9 [M-H] ⁻	0	191.055 5, 193.049 9	0.12
32	14.486	柚皮素 ¹⁾	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 2 [M-H] ⁻	1.8	65.002 1, 107.013 0, 119.049 3	9.72
33	10.038	杨梅素-3-O-半乳糖苷 ¹⁾	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	479.084 1 [M-H] ⁻	3.2	271.024 8, 316.022 3	11.22
34	1.119	L-脯氨酸 ¹⁾	C ₅ H ₉ NO ₂	116.070 9 [M+H] ⁺	2.6	70.065 6	4.95
35	1.073	果糖 ¹⁾	C ₆ H ₁₂ O ₆	179.055 6 [M-H] ⁻	0.1	87.007 9, 161.045 1	2.33
36	3.708	原儿茶酸 ¹⁾	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 6 [M-H] ⁻	1.4	109.028 5	1.74
37	1.100	粘酸 ²⁾	C ₆ H ₁₀ O ₈	209.029 8 [M-H] ⁻	0.2	133.013 3, 191.019 2	-
38	1.124	柠檬酸 ²⁾	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 1 [M-H] ⁻	0.7	173.008 0, 147.029 0	-
39	27.148	androstane-3,17-diol ²⁾	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	293.247 2 [M+H] ⁺	2.8	81.070 4, 95.086 0	-
40	10.809	杨梅素 ²⁾	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	319.044 7 [M+H] ⁺	2.1	165.018 3, 273.039 4, 301.035 2	-
41	17.939	松属素 ²⁾	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 6 [M-H] ⁻	3.5	151.003 0, 213.055 2	-
42	19.988	香豆素 ³⁾	C ₉ H ₆ O ₂	147.044 0 [M+H] ⁺	4.4	91.054 7	-
43	1.153	马来酸 ³⁾	C ₄ H ₄ O ₄	115.002 8 [M-H] ⁻	2.9	71.012 9	-
44	11.292	金石蚕苷 ³⁾	C ₃₅ H ₄₆ O ₁₉	769.256 7 [M-H] ⁻	1.6	161.023 7, 607.225 5, 769.256 7	-
45	12.112	开环异落叶松树脂酚 ³⁾	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	361.165 6 [M-H] ⁻	1.3	165.054 7, 346.142 7	-
46	7.681	香草醛 vanillin ³⁾	C ₈ H ₈ O ₃	151.039 3 [M-H] ⁻	1.4	92.029 4, 136.016 0	-
47	8.792	3-羟基肉桂酸 ³⁾	C ₉ H ₈ O ₃	163.039 6 [M-H] ⁻	0.3	119.049 4, 135.043 9	-

注: ¹⁾果肉与果核共有成分; ²⁾果肉有而果核没有的成分; ³⁾果肉没有而果核有的成分; ⁴⁾比值为果肉/果核。

2.4 余甘子中有效成分含量的HPLC测定

2.4.1 色谱条件 Welchrom C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-0.05% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~6 min, 5%A; 6~15 min, 5%~7%A; 15~20 min, 7%~15%A; 20~25 min, 15%~21%A; 25~31 min, 21%~22%A; 31~41 min, 22%A; 41~47 min, 22%~28%A; 47~51 min, 28%~32%A; 51~57 min, 32%~38%A; 57~70 min, 38%~45%A; 70~80 min, 45%~65%A; 80~85 min, 65%~5%A), 柱温 25 °C, 检测波长 270 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL。

2.4.2 供试品溶液的制备 分别取余甘子果核、果肉、果实粉末约 0.1 g, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液。

2.4.3 线性关系考察 将 2.3.2 项下没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸对照品溶液置于同一棕色量瓶内, 分别稀释至 6 个不同质量浓度, 加 50% 甲醇定容, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 对照品质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸回归方程分别为 $Y=532.02X-0.842\ 23$ ($r=0.999\ 7$), $Y=279.8X+0.011$ ($r=1.000\ 0$), $Y=187.6X+0.147$ ($r=0.999\ 5$), $Y=555.16X+0.151\ 3$ ($r=1.000\ 0$), 线性范围依次为 14.04~702, 1.456~29.2, 41.2~147, 0.76~76 mg·L⁻¹。

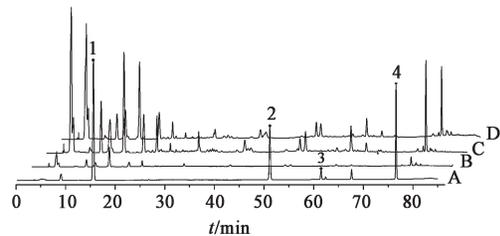
2.4.4 精密度试验 取样品 S4 的供试品溶液适量, 按 2.4.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。结果没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 1.3%, 2.8%, 2.8%, 表明仪器精密度良好。

2.4.5 重复性试验 取同一批余甘子药材(样品 S4), 按 2.4.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图。结果没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸的平均质量分数分别为 0.90%, 0.62%, 1.17%, 0.99%, RSD 分别为 1.3%, 2.4%, 2.0%, 2.3%, 表明该方法重复性良好。

2.4.6 稳定性试验 取样品 S4 的供试品溶液适量, 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 结果没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 1.7%, 1.8%, 1.1%, 1.0%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.4.7 样品测定 取 20 批余甘子果核、果肉、果实样品, 按 2.4.2 项下方法平行制备供试品溶液, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图, 见图 2, 含量测定结果见表 6。利用 SPSS 21.0 对含量测定结果进行方差分析, 采用 Origin 2019b 作差异分析图, 见

图 3。结果发现果肉中各成分含量远大于果核, 略大于果实。其中, 果肉中没食子酸含量为果核的 2~8 倍 ($P<0.01$); 果肉中柯里拉京含量为果核的 6~18 倍 ($P<0.01$); 果肉中诃黎勒酸含量为果核的 8~50 倍 ($P<0.01$); 果肉中鞣花酸含量为果核的 6~32 倍 ($P<0.01$)。总体而言, 没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、鞣花酸等成分主要集中于果肉, 果核中这些成分含量极低。



A. 混合对照品; B. 果核; C. 果肉; D. 果实; 1. 没食子酸; 2. 柯里拉京; 3. 诃黎勒酸; 4. 鞣花酸

图 2 余甘子药材 S7 不同部位的 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of sample S7 of Phyllanthi Fructus

2.5 余甘子药材不同部位的抑菌作用考察

2.5.1 提取液的制备 称取余甘子果核、果肉、果实粉末各 0.5 g, 分别置于具塞锥形瓶中, 精密加入水 20 mL, 称定质量, 超声处理 20 min, 放冷, 加水补足质量, 摇匀, 离心(3 500 r·min⁻¹, 15 min, 离心半径 32 cm, 下同), 取上清液加水稀释至所需生药质量浓度, 即得。

2.5.2 菌悬液的制备 分别对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌 2 种菌种(购自中国普通微生物菌种保藏管理中心)接种、常规培养至 3 代备用。取培养后的细菌原液, 采用 10 倍稀释法稀释, 依次标记为 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} ... 1×10^{-8} CFU·mL⁻¹ ($n=2$)。采用平板菌落计数法, 培养后计算各培养皿的菌落, 得最佳供试菌液浓度为 1×10^6 CFU·mL⁻¹。

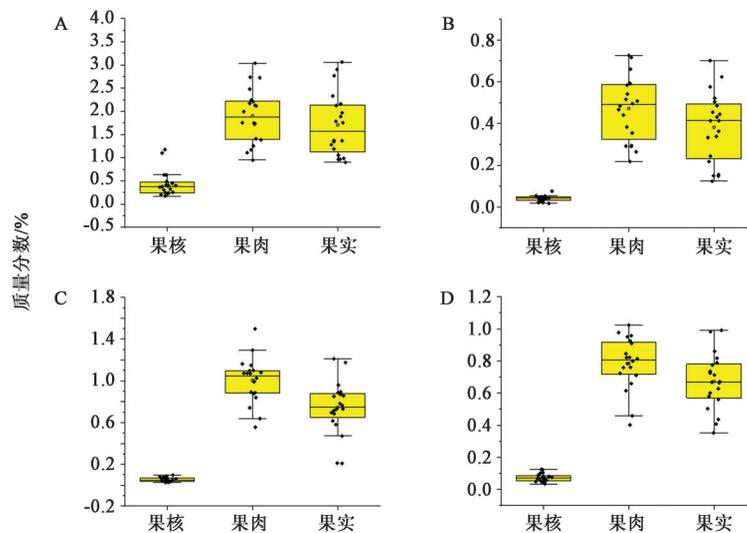
2.5.3 抑菌试验 在无菌条件下, 吸取菌悬液(1×10^6 CFU·mL⁻¹) 0.2 mL 涂布在凝固的平板表面, 分别取各浓度的含药溶液及水(空白试剂) 2 mL 于灭菌培养皿中, 放入直径 9 mm 的中性滤纸片, 浸泡 4 h, 用无菌镊子夹起滤纸片(同一质量浓度的余甘子果核、果肉、果实及空白试剂)顺时针贴在表面含菌的同一平板上, 平行 3 组, 37 °C 培养 24 h。培养结束后测量抑菌圈的大小, 计算平均值, 见表 7。结果发现不同质量浓度的余甘子果核均无抑菌作用, 而果肉与果实抑菌效果明显, 两者抑菌效果差异不大; 但总体而言, 低质量浓度时, 果实抑菌效果略优, 随着提取物质量浓度增加, 果肉抑菌效果更强。

表6 余甘子药材不同部位中指标成分的质量分数 (n=3)

Table 6 Contents of index components in different parts of Phyllanthi Fructus (n=3)

%

样品 编号	没食子酸			柯里拉京			河黎勒酸			鞣花酸		
	果核	果肉	果实									
S1	0.23	1.72	1.38	0.05	0.66	0.58	0.03	0.99	0.85	0.04	0.76	0.74
S2	0.23	1.16	0.97	0.05	0.58	0.52	0.03	1.15	0.96	0.03	0.95	0.86
S3	1.18	2.74	2.77	0.03	0.38	0.24	0.07	1.07	0.68	0.13	0.82	0.60
S4	0.17	0.95	0.90	0.05	0.73	0.62	0.03	1.29	1.17	0.05	1.02	0.99
S5	0.30	1.26	0.97	0.04	0.22	0.34	0.08	0.88	0.78	0.06	0.40	0.41
S6	0.63	3.04	2.90	0.03	0.29	0.15	0.05	0.56	0.21	0.12	0.91	0.35
S7	0.37	1.75	1.06	0.04	0.47	0.50	0.06	1.16	0.88	0.09	0.98	0.71
S8	0.24	1.11	1.28	0.05	0.44	0.33	0.04	1.07	0.69	0.05	0.76	0.50
S9	1.10	2.72	3.06	0.02	0.26	0.15	0.04	0.64	0.21	0.07	0.71	0.56
S10	0.25	2.00	2.33	0.04	0.49	0.22	0.10	1.07	0.62	0.08	0.72	0.58
S11	0.49	2.17	1.78	0.02	0.29	0.12	0.09	0.74	0.58	0.10	0.62	0.67
S12	0.32	1.73	1.19	0.04	0.72	0.70	0.03	1.50	1.21	0.06	0.96	0.98
S13	0.39	2.12	1.88	0.04	0.49	0.49	0.03	1.03	0.89	0.06	0.80	0.79
S14	0.45	2.13	1.97	0.02	0.29	0.15	0.05	0.89	0.47	0.08	0.66	0.63
S15	0.63	2.25	1.75	0.05	0.54	0.41	0.07	0.89	0.73	0.10	0.78	0.66
S16	0.36	2.48	2.12	0.05	0.52	0.45	0.08	1.10	0.73	0.05	0.85	0.77
S17	0.40	1.38	0.98	0.08	0.51	0.44	0.06	1.08	0.86	0.08	0.81	0.67
S18	0.40	2.21	2.16	0.04	0.59	0.43	0.05	1.10	0.87	0.07	0.82	0.82
S19	0.20	1.41	1.37	0.05	0.36	0.36	0.07	0.84	0.76	0.07	0.46	0.44
S20	0.41	1.75	1.35	0.04	0.59	0.41	0.04	0.99	0.71	0.07	0.92	0.72



A. 没食子酸; B. 柯里拉京; C. 河黎勒酸; D. 鞣花酸

图3 余甘子果核、果肉、果实中4个指标成分的含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=20$)

Fig. 3 Comparison on contents of 4 index components in core, pulp and fruit of Phyllanthi Fructus ($\bar{x} \pm s, n=20$)

2.6 余甘子药材不同部位的抗氧化活性考察

2.6.1 提取液的制备 称取余甘子果核、果肉、果实粉末各0.2 g, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入水50 mL, 称定质量, 超声20 min, 放冷, 加水补足质

量, 摇匀, 离心, 取上清液, 即得。

2.6.2 DPPH 自由基清除能力测定 称取少量DPPH, 加入无水乙醇配置成0.2 mmol·L⁻¹ DPPH溶液。取待测液(稀释成不同质量浓度)100 μL, 加入

表7 余甘子各提取物抑菌圈直径 (n=3)

Table 7 Diameter of bacteriostatic zone of each extract of *Phyllanthi Fructus* (n=3)

菌种	提取物质量浓度/g·L ⁻¹	果肉抑菌圈直径/mm	果实抑菌圈直径/mm
大肠埃希菌	0.005	14.66	17.00
	0.012 5	15.00	15.33
	0.025	16.33	16.00
金黄色葡萄球菌	0.005	11.00	12.66
	0.012 5	14.60	12.00
	0.025	15.66	15.00

注:果核抑菌圈直径均为9 mm。

DPPH 溶液 100 μL, 混匀, 避光反应 30 min, 通过多功能微孔读板机于 517 nm 处测定吸光度 A, 按公式清除率=[A₀-(A_i-A_j)]/A₀×100% 计算清除率, 式中 A₀ 为未加样品的 DPPH 溶液的 A, A_i 为样品溶液+DPPH 溶液的 A, A_j 为样品溶液的 A, 见表 8; 同时, 计算各样品的半抑制浓度 (IC₅₀), IC₅₀ 越小, 表明抗氧化能力越强。结果余甘子果核、果肉、果实的 IC₅₀ 分别为 199.632, 12.688, 25.045 mg·L⁻¹; 同时, 随着质量浓度增加, 各提取物对 DPPH 清除能力逐渐加强。余甘子果核仅在 400 mg·L⁻¹ 时具有较强抗氧化作用, 果肉则在 100 mg·L⁻¹ 时就表现出了极强的抗氧化作用。总体而言, 果肉抗氧化作用强于果实, 且远强于果核。

表8 余甘子果核、果肉、果实提取物的 DPPH 抗氧化活性 (n=6)

Table 8 Comparison of DPPH antioxidant activity among core, pulp and fruit extracts of *Phyllanthi Fructus* (n=6)

提取物质量浓度/mg·L ⁻¹	清除率/%		
	果核	果肉	果实
10	2.69	43.28	27.70
20	8.13	57.66	36.21
40	11.26	81.99	63.41
100	26.27	94.25	91.12
200	46.97	95.00	93.93
400	74.80	95.00	93.62

3 讨论

关于余甘子去核应用的资料十分有限, 同时, 其在应用中是否去核也存在一定争议。UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术可采用全扫描和自动触发二级扫描模式同时对正、负离子进行测定, 具有高通量、高分辨率、高灵敏度的特点, 适用于中药复杂体系的组分分析^[12-13]。基于此, 本研究采用 UPLC-Q-

Orbitrap HRMS 技术对余甘子果核、果肉中化学成分进行全面鉴定, 共鉴定了 47 个化合物, 主要包括多酚类、氨基酸类、脂肪酸类、有机酸类。通过对比二者共有成分丰度大小, 发现余甘子主要有效成分多酚类化合物在果肉中的丰度远大于果核, 最高达到了 81.39 倍。其中, 没食子酸、鞣花酸、柯里拉京、河黎勒酸等多酚类成分被报道具有抗菌、抗氧化、抗炎、降血糖、免疫调节、保肝等作用^[14-15], 是余甘子的主要活性成分, 可能是余甘子的质量标志物。因此, 本研究进一步建立了没食子酸、柯里拉京、河黎勒酸、鞣花酸 4 种成分的 HPLC 含量测定方法, 并对 20 批不同产地的余甘子果核、果肉、果实进行了含量测定, 结果显示不同批次余甘子样品中指标成分含量存在差异, 4 种有效成分主要集中在果肉中, 果核中含量极低。在此基础上, 本课题组进一步考察了余甘子果实、果核、果肉的抗菌、抗氧化活性, 结果表明不同质量浓度余甘子果核均不具有抗菌作用, 抗氧化作用远小于果肉。综上分析, 本文从成分到活性、从定性到定量科学求证了余甘子果核对药材质量的影响。说明古代和现今采用余甘子肉可能是为了去除余甘子质次部分, 以增强药材实际利用率和治疗效果。但余甘子果核也可作他用, 有研究表明从余甘子果核中提取的果核油可以转向高质量油料, 如生物航空燃料等^[16], 这可以使废弃的余甘子果核得到充分利用, 减少资源浪费问题。

综上所述, 在同批次药材中, 余甘子肉从含量和活性来看均优于余甘子, 可以考虑在相关标准中收载余甘子肉。余甘子果核在药材中占比较大, 鉴于其含有较高的脂肪酸等成分, 在复杂的实际临床应用, 是否去核使用还有待于进一步研究确认。本文通过化学成分和体外药理活性研究首次评估了余甘子果核、果肉间的差异性, 并未阐明化学成分与药理活性之间的相关性, 后续将针对余甘子药材不同临床应用建立物质基础-作用机制-临床疗效评估网络, 以助于更全面衡量余甘子药材质量的影响因素, 为该药材的质量控制、标准制订、资源开发等提供参考依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 186-187.
- [2] YANG B, LIU P. Composition and biological activities of hydrolyzable tannins of fruits of *Phyllanthus emblica*

- [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(3): 529-541.
- [3] DHALE D A, MOGLE U P. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Phyllanthus emblica* (L.) [J]. Sci Res Rep, 2011, 1(3): 138-142.
- [4] LUO W, ZHAO M, YANG B, et al. Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities [J]. Food Chem, 2009, 114(2): 499-504.
- [5] 崔炳权, 黄伟侨, 林元藻. 余甘子抗疲劳、抗缺氧作用实验研究 [J]. 中国现代中药, 2008, 10(6): 26-28.
- [6] EL-MEKKAWY S, MESELY M R, KUSUMOTO I T, et al. Inhibitory effects of egyptian folk medicines on human immunodeficiency virus (HIV) reverse transcriptase [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1995, 43(4): 641-648.
- [7] ZHAO T J, SUN Q, MARQUES M, et al. Anticancer properties of *Phyllanthus emblica* (Indian gooseberry) [J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 950890.
- [8] KRISHNAVENI M, MIRUNALINI S. Therapeutic potential of *Phyllanthus emblica* (amla): the ayurvedic wonder [J]. J Basic Clin Physiol Pharmacol, 2010, 21(1): 93-105.
- [9] Ministry of Health and Family Welfare. Indian Pharmacopoeia: volume III [M]. Ghaziabad: the Indian Pharmacopoeia Commission, 2010: 2471.
- [10] 黄浩洲, 魏夕川, 林俊芝, 等. 余甘子回流过程中鞣质转化及药典含量测定方法合理性探讨 [J]. 中国药理学杂志, 2019, 54(7): 581-587.
- [11] YANG B R, KORTESNIEMI M, LIU P Z, et al. Analysis of hydrolyzable tannins and other phenolic compounds in emblic leafy fruit (*Phyllanthus emblica* L.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(35): 8672-8683.
- [12] 贺美莲, 郭常川, 石峰, 等. Orbitrap 高分辨质谱技术在药物分析领域中的应用进展 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(1): 105-110.
- [13] 胡瀚文, 赵永艳, 杨天龙, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的川佛手化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(7): 148-155.
- [14] D'SOUZA J J, D'SOUZA P P, FAZAL F, et al. Anti-diabetic effects of the Indian indigenous fruit *Emblia officinalis* Gaertn: active constituents and modes of action [J]. Food Funct, 2014, 5(4): 635-644.
- [15] THILAKCHAND K R, MATHAI R T, SIMON P, et al. Hepatoprotective properties of the Indian gooseberry (*Emblia officinalis* Gaertn): a review [J]. Food Funct, 2013, 4(10): 1431-1441.
- [16] 胡国庆, 熊常健, 朱岳麟, 等. 余甘子果核油组分性质及介电精制研究 [J]. 天津理工大学学报, 2012, 28(4): 41-45.

[责任编辑 刘德文]