

# 瑶药消瘤藤的质量标准研究<sup>△</sup>

黄建猷<sup>1,2\*</sup>, 胡筱希<sup>1</sup>, 谭晓<sup>1</sup>, 屈信成<sup>1</sup>, 陆国寿<sup>1,2#</sup>, 黄周锋<sup>1</sup>(1.广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022; 2.广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)21-2624-07  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.21.11



**摘要** 目的:建立瑶药消瘤藤的质量标准,为其质量控制提供参考。方法:采集10批广西产消瘤藤药材,观察其性状,并对其根、茎的横切面以及药材粉末进行显微鉴别;以7-羟基香豆素为指标成分建立该药材的薄层色谱(TLC)鉴别方法;测定该药材中水分、总灰分、酸不溶性灰分和醇溶性浸出物;采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定该药材中茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量。结果:消瘤藤根和茎表面皱纹明显、质硬,气微、味微苦,横切面有分泌细胞和针晶细胞分布;药材粉末中有草酸钙针晶、草酸钙方晶、石细胞和淀粉粒。TLC结果显示,供试品色谱中,在与7-羟基香豆素对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。10批药材的水分测定结果为9.1%~11.8%,总灰分为3.6%~6.7%,酸不溶性灰分为0.10%~0.44%,醇溶性浸出物为8.9%~14.0%。茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的质量浓度分别在6.088~182.640、1.568~47.040、1.096~32.880 μg/mL范围内与其对应色谱峰峰面积成良好的线性关系( $r$ 均不低于0.999 7);平均加样回收率分别为99.47%、101.07%、99.89%(RSD均小于2%);精密度、稳定性(24 h)、重复性、耐用性试验的RSD均小于2%。茵芋苷等3种待测成分的含量分别为1.337~9.534、0.348~2.236、0.083~1.088 mg/g。结论:初步拟定消瘤藤中水分不得过12.0%、总灰分不得过7.0%、醇溶性浸出物不得少于8.0%、茵芋苷含量不得少于1.30 mg/g、7-羟基香豆素含量不得少于0.30 mg/g、7-羟基-8-甲氧基香豆素含量不得少于0.06 mg/g。

**关键词** 瑶药;消瘤藤;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;显微鉴别;性状鉴别;茵芋苷;7-羟基香豆素;7-羟基-8-甲氧基香豆素

## Study on Quality Standard of Yao Medicine *Pileostegia tomentella*

HUANG Jianyou<sup>1, 2</sup>, HU Xiaoxi<sup>1</sup>, TAN Xiao<sup>1</sup>, QU Xincheng<sup>1</sup>, LU Guoshou<sup>1, 2</sup>, HUANG Zhoufeng<sup>1</sup> (1. Guangxi Zhuang Autonomous Region Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning 530022, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard of Yao medicine *Pileostegia tomentella*, and to provide reference for its quality control. METHODS: Totally 10 batches of *P. tomentella* were collected from Guangxi area. The properties of *P. tomentella* were observed and microscopic identification was conducted for the transverse section of its stems, roots and powder. TLC method was established by using 7-hydroxycoumarin as reference. The contents of water, total ash, acid-insoluble ash and alcohol-soluble extract in *P. tomentella* were determined. The contents of skimmion, 7-hydroxycoumarin and 7-hydroxy-8-methoxycoumarin in *P. tomentella* were determined by HPLC. RESULTS: The root and stem surface of *P. tomentella* possessed obvious wrinkles, hard texture, slight smell and bitter taste, and there were secretory cells and needle crystal cells in the cross section. The medicinal powder contained calcium oxalate needle crystal, calcium oxalate square crystal, sclerotic cell and starch granules. The results of TLC showed that the spots of the same color were found in the corresponding positions of chromatograms of test samples and 7-hydroxycoumarin control. In the 10 batch of *P. tomentella*, the contents of water were 9.1%-11.8%; those of total ash were 3.6%-6.7%; those of acid-insoluble ash were 0.10%-0.44%; those of alcohol-soluble extract were 8.9%-14.0%. The linear range of skimmion, 7-hydroxycoumarin and 7-hydroxy-8-methoxycoumarin were 6.088-182.640, 1.568-47.040 and 1.096-32.880 μg/mL (all  $r$  not less than 0.999 7). The average recoveries were 99.47%, 101.07% and 99.89% (RSD were all less than 2%). RSDs of precision, stability (24 h), reproducibility and durability tests were all lower than 2%. The contents of 3 components such as skimmion were 1.337-9.534, 0.348-2.236, 0.083-1.088 mg/g, respectively. CONCLUSIONS: It is preliminarily proposed that the content of water in *P. tomentella* is not more than 12.0%; that of total ash is not more than 7.0%; that of alcohol-soluble extract is not less than 8.0%; that of skimmion is not less than 1.30 mg/g; that of 7-hydroxy-

△ 基金项目:广西自然科学基金资助项目(No.2020GXNS-FAA259067);广西中医药适宜技术开发与推广项目(No.GZSY20-04);广西中药质量标准研究重点实验室自主研究课题(No.桂中重自201705)

\* 副主任药师。研究方向:中药药效物质基础及质量标准。电话:0771-5868986。E-mail:dearhuangjianyou@126.com

# 通信作者:副主任药师。研究方向:中药学。电话:0771-5868986。E-mail:luguoshou@foxmail.com

coumarin is not less than 0.30 mg/g; that of 7-hydroxy-8-methoxycoumarin is not less than 0.06 mg/g.

**KEYWORDS** Yao medicine; *Pileostegia tomentella*; Quality standard; TCL; HPLC; Microscopic identification; Character identification; Skimmin; 7-hydroxycoumarin; 7-hydroxy-8-methoxycoumarin

消瘤藤又名星毛冠盖藤、肿瘤藤等,为虎耳草科植物星毛冠盖藤 *Pileostegia tomentella* Hand.-Mazz. 的干燥根和茎,被《中国高等植物图鉴(第二册)》《中国植物志(第三十五卷)》《中华本草(第四册)》《广西植物志(第二卷)》《广西药用植物名录》等收载<sup>[1-5]</sup>,且已被列为《广西壮族自治区瑶药材质量标准(第二卷)》拟收录品种。该药主要分布于我国广西、浙江、江西、福建、湖南、广东、贵州等地<sup>[3]</sup>,在广西主要分布于上林、防城、灵山、贺州、钟山、平乐、龙胜等地<sup>[5]</sup>。据文献记载,消瘤藤主要含有香豆素类、苯丙素类、环烯醚萜类和挥发油类等化学成分,具有祛风除湿、散瘀止痛、消肿解毒的功效<sup>[6-9]</sup>。药理研究表明,该药具有抗肿瘤、抗氧化等活性<sup>[10-13]</sup>。广西民间瑶医多年的临床实践证明,该药具有抗肿瘤作用,可用于治疗多种恶性肿瘤<sup>[6-8,14]</sup>。在其质量控制方面,李耀燕等<sup>[14]</sup>对广西产消瘤藤的生药学进行了研究;卢森华等<sup>[15]</sup>对不同产地消瘤藤药材的质量进行了评价;李咏梅等<sup>[16]</sup>对消瘤藤不同药用部位的化学成分进行了高效液相色谱(HPLC)分析;肖冰梅等<sup>[17]</sup>对湖南产消瘤藤的水分、灰分、浸出物等进行了研究,等等。但上述研究都相对简单且不够系统,不能有效满足对消瘤藤药材的质量控制;同时,由于生长环境的不同,不同产地的消瘤藤药材在质量、形态及组织结构等方面可能会有所不同。因此,有必要建立系统而完善的消瘤藤质量标准。鉴于此,本研究收集了广西不同产地的消瘤藤样品,建立了快速、简便、准确、有效的质量分析方法,旨在为消瘤藤药材的质量标准研究提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有 E2695 型 HPLC 仪(美国 Waters 公司)、1260 型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司)、RM2245 型切片机(德国 Leica 公司)、Ni-U 型生物显微镜(日本 Nikon 公司)、XS205 型十万分之一电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)、KS-3200DE 型液晶超声波清洗器(昆山洁力美超声仪器有限公司)、ZF1- II 型紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司)、SX2-23-10 型箱式电阻炉(沈阳市节能电炉厂)、AK-400A 型摇摆式粉碎机(温岭市林大机械有限公司)、硅胶 G 薄层色谱(TLC)板(青岛海洋化工有限公司,批号 20190408)、Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有 7-羟基-8-甲氧基

香豆素对照品、7-羟基香豆素对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 X14O10L100104、A04A6L1,纯度  $\geq 98\%$ ),茵芋苷对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 wkq19011409,纯度  $\geq 98\%$ ),乙腈(色谱纯,美国 Merck 公司),磷酸、乙醇、甲醇(分析纯,广东光华科技股份有限公司),氯仿、丙酮(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

10 批消瘤藤药材采自广西各个产地,经广西壮族自治区中医药研究院黄云峰副研究员鉴定,均为虎耳草科植物星毛冠盖藤 *P. tomentella* Hand.-Mazz. 的干燥根和茎。取部分药材,洗净,切片,备用。10 批消瘤藤药材样品的来源信息如表 1 所示。

表 1 10 批消瘤藤药材样品的来源信息

Tab 1 Source information of 10 batches of *P. tomentella*

编号	采集时间	采集地点
S1	2018-11-01	来宾市金秀县六巷乡大凳村
S2	2018-11-01	来宾市金秀县莲花山风景区
S3	2018-10-31	来宾市金秀县长垌乡镇冲村
S4	2019-06-07	桂林市全州县龙水镇
S5	2019-06-02	南宁市马山县古零镇水锦大峡谷风景区
S6	2019-06-27	梧州市藤县和平镇
S7	2019-01-09	桂林市兴安县华江乡鲤鱼塘村
S8	2019-01-12	桂林市永福县龙江乡驛马村下垌屯
S9	2019-06-14	桂林市尧山风景区
S10	2016-01-01	来宾市金秀县莲花山风景区

## 2 方法与结果

### 2.1 性状鉴别

本品根为圆柱形,表面呈灰褐色,具纵皱纹及支根痕,直径 0.2~1 cm;质硬,难折断,断面皮部呈棕褐色,木部呈灰白色。茎为圆柱形,表面呈灰褐色,具纵皱纹及细小气生根痕,老茎栓皮有明显的不规则沟槽,直径 0.6~3 cm;质硬,难折断,断面皮部呈灰褐色,木部呈黄白色,有细密的放射状纹理,中部有灰黄色髓或中空。其饮片多为斜切片,厚 0.2~0.8 cm,直径 0.5~4 cm。本品气微,味微苦。消瘤藤的性状鉴别图如图 1 所示。

### 2.2 显微鉴别

2.2.1 根横切面的显微鉴别 本品根有木栓层细胞 5~10 列,呈扁方形或类圆形。皮层内散布着分泌细胞和针晶细胞,部分分泌细胞内含棕黄色分泌物质。韧皮部较窄,可见分泌细胞和针晶细胞分布。木质部导管多单个径向排列,直径 15~86  $\mu\text{m}$ ;木射线细胞 1~3 列;部分薄壁细胞内含淀粉粒或棕黄色分泌物质。消瘤藤根横切面的显微鉴别图如图 2 所示。

2.2.2 茎横切面的显微鉴别 本品茎有木栓层细胞 3~



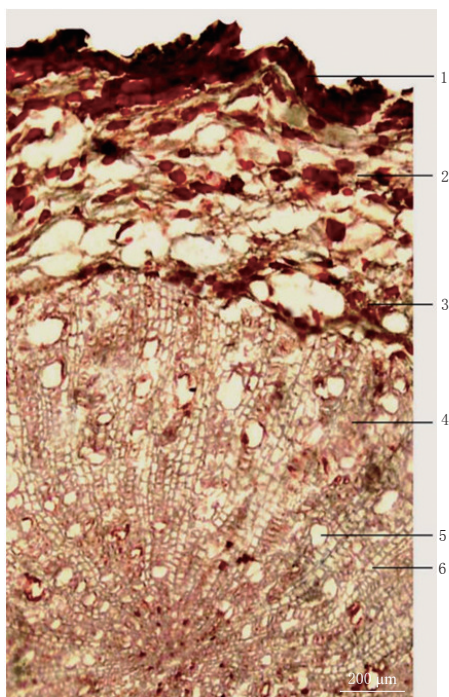
A. 消瘤藤药材



B. 消瘤藤饮片

图1 消瘤藤的性状鉴别图

Fig 1 Character identification photograph of *P. tomentella*



注: 1. 木栓层; 2. 皮层; 3. 韧皮部; 4. 木质部; 5. 导管; 6. 木射线

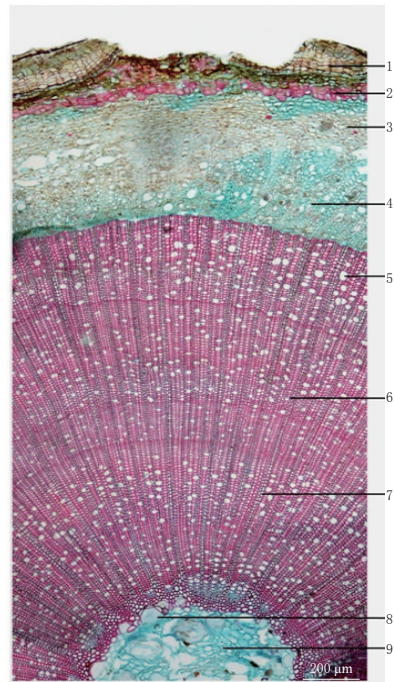
Note: 1. phellem layer; 2. cortex; 3. phloem; 4. xylem; 5. vessel;

6. xylem ray

图2 消瘤藤根横切面的显微鉴别图

Fig 2 Micrograph of transverse section of root of *P. tomentella*

10列,呈长方形或类圆形。皮层外侧有2~3层石细胞断续排列成环,皮层和韧皮部可见分泌细胞和针晶细胞分布。木质部宽广,导管多为单个径向排列,直径18~46 μm;木射线细胞有1~3列。髓部外侧细胞壁较厚,中部细胞壁较薄,可见分泌细胞和针晶细胞分布,且分泌细胞内含棕黄色分泌物质。消瘤藤茎横切面的显微鉴别图如图3所示。



注: 1. 木栓层; 2. 石细胞; 3. 皮层; 4. 韧皮部; 5. 导管; 6. 木质部; 7. 木射线; 8. 分泌细胞; 9. 髓部

Note: 1. phellem layer; 2. sclereid; 3. cortex; 4. phloem; 5. vessel; 6. xylem; 7. xylem ray; 8. secretory cell; 9. medulla

图3 消瘤藤茎横切面的显微鉴别图

Fig 3 Micrograph of transverse section of stem of *P. tomentella*

2.2.3 药材粉末的显微鉴别 本品粉末呈棕黄色。纤维成束或分离,先端圆钝或折断;胞腔较宽,直径13~36 μm。石细胞较多,单个或数个相连,呈多角形、类圆形、长椭圆形等;细胞壁较厚;孔沟明显,长40~105 μm,宽15~55 μm。草酸钙针晶较多,散在或存在于薄壁细胞中。草酸钙柱晶粗细和长短不一,直径宽至5 μm,长45~180 μm。草酸钙方晶较少,直径8~16 μm。淀粉粒为单粒或复粒,复粒由2~5个分粒组成,呈圆形、半圆形或类圆形;脐点呈点状或裂缝状,直径4~13 μm。梯纹导管少见,直径18~31 μm。消瘤藤药材粉末的显微鉴别图如图4所示。

### 2.3 TLC鉴别

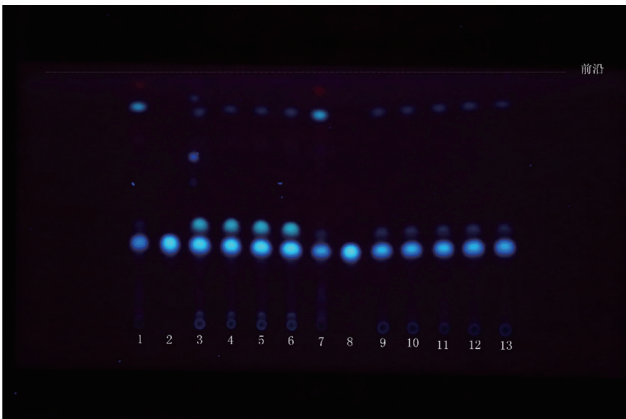
取本品粉末(过40目筛,下同)2 g,加95%乙醇50 mL回流提取1.5 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,作为供试品溶液。另取7-羟基香豆素对照品,加



图4 消瘤藤药材粉末的显微鉴别图

Fig 4 Micrograph of *P. tomentella* powder

甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。参照2020年版《中国药典》(四部)通则“0502 TLC法”操作<sup>[18]</sup>;吸取上述2种溶液各5~10 μL,分别点于同一硅胶G TLC板上,以氯仿-丙酮(9.5:0.5, V/V)为展开剂,在温度30 ℃、相对湿度68%的条件下展开;取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果可见,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。消瘤藤的TLC鉴别图如图5所示。



注:1、7为样品S1;2、8为7-羟基香豆素对照品;3~6、9~13依次为样品S2~S5、S6~S10

Note: 1, 7 were sample (S1); 2, 8 were 7-hydroxycoumarin control; 3-6, 9-13 were samples (No. S2-S5, S6-S10)

图5 消瘤藤的TLC鉴别图

Fig 5 TLC identification photograph of *P. tomentella*

## 2.4 水分测定

参照2020年版《中国药典》(四部)通则“0832水分测定法第二法”对消瘤藤药材中的水分进行测定<sup>[18]</sup>,每批样品平行测定3次。结果显示,10批样品的水分分别为9.1%~11.8%,平均值为10.3%(RSD=8.6%, n=3)。考虑到药材来源差异,本研究以略高于最高测定值设限,初步拟定消瘤藤药材中水分不得过12.0%。消瘤藤药材中水分的测定结果如表2所示。

表2 消瘤藤药材中水分、总灰分、酸不溶性灰分和醇溶性浸出物的测定结果(n=3, %)

Tab 2 Results of determination of water, total ash, acid-insoluble ash and alcohol-soluble extract in *P. tomentella*(n=3, %)

编号	水分	总灰分	酸不溶性灰分	醇溶性浸出物
S1	9.8	4.1	0.21	10.9
S2	9.1	3.6	0.12	9.5
S3	9.8	4.4	0.20	11.2
S4	11.7	6.4	0.16	14.0
S5	10.4	4.8	0.15	10.2
S6	10.8	4.4	0.10	11.1
S7	9.5	4.7	0.44	10.6
S8	10.0	3.9	0.19	10.9
S9	10.3	6.7	0.23	8.9
S10	11.8	5.6	0.35	10.5
平均值	10.3	4.9	0.22	10.8
RSD	8.6	21.5	48.9	12.5

## 2.5 总灰分和酸不溶性灰分测定

参照2020年版《中国药典》(四部)通则“2302灰分测定法”对消瘤藤药材中的灰分进行测定<sup>[18]</sup>,每批样品平行测定3次。结果显示,10批样品的总灰分测定值为3.6%~6.7%,平均值为4.9%(RSD=21.5%, n=3)。考虑到药材来源差异,本研究以略高于最高测定值设限,初步拟定消瘤藤药材中总灰分不得过7.0%。酸不溶性灰分测定值为0.10%~0.44%,平均值为0.22%(RSD=48.9%, n=3)。鉴于实测值均较小,故暂不设定其酸不溶性灰分的限度。消瘤藤药材中总灰分和酸不溶性灰分的测定结果如表2所示。

## 2.6 醇溶性浸出物测定

消瘤藤中富含香豆素及其苷类成分<sup>[7-9]</sup>,这些成分溶于乙醇,故本研究考虑将醇溶性浸出物作为该药材质量控制的指标之一;同时,考虑到热浸法可以节省时间,提取率也高,故采用热浸法进行测定,具体方法参照2020年版《中国药典》(四部)通则“2201浸出物测定法”项下的“醇溶性浸出物测定法”<sup>[18]</sup>,每批样品平行测定3次。结果显示,10批样品的醇溶性浸出物测定值为8.9%~14.0%,平均值为10.8%(RSD=12.5%, n=3)。考虑到药材来源差异,本研究以略低于最低测定值设限,初步拟定消瘤藤药材中醇溶性浸出物不得少于8.0%。消瘤藤药材中醇溶性浸出物的测定结果如表2所示。

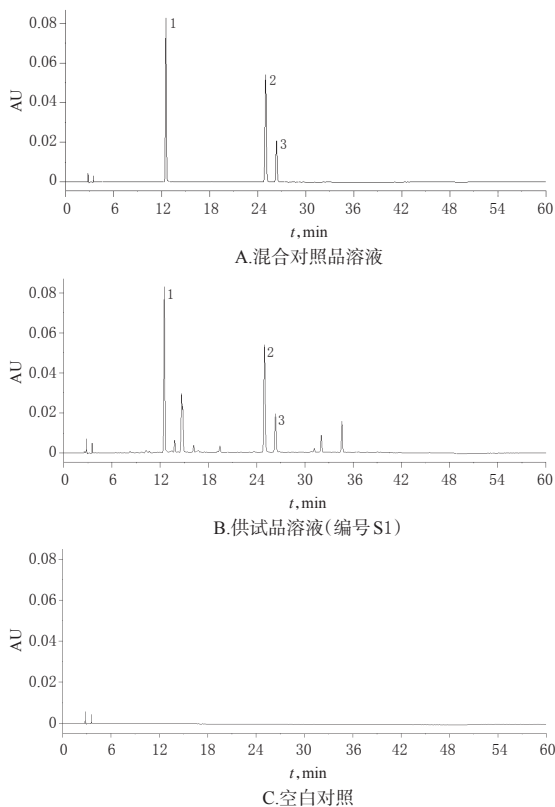
## 2.7 茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量测定

2.7.1 溶液的制备 (1)供试品溶液的制备:取样品粉末约0.5 g,精密称定,置于具塞三角瓶中,精密加入80%甲醇25 mL,称定质量,超声(功率180 W,频率40 kHz)处理40 min;放至室温,再次称定质量,用80%甲醇补足

即得。(2)混合对照品溶液的制备:取茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含茵芋苷304.4 μg、7-羟基香豆素78.4 μg和7-羟基-8-甲氧基香豆素54.8 μg的溶液,作为混合对照品贮备液。精密吸取上述混合对照品贮备液1 mL,置于10 mL量瓶中,加甲醇制成每1 mL含茵芋苷30.44 μg、7-羟基香豆素7.84 μg和7-羟基-8-甲氧基香豆素5.48 μg的溶液,作为混合对照品溶液。

2.7.2 色谱条件与系统适用性试验 以Waters XBridge® C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~45 min, 5% A→30% A; 45~46 min, 30% A→5% A; 46~60 min, 5% A);检测波长为320 nm;流速为1 mL/min;柱温为25 °C;进样体积为10 μL。

分别精密吸取“2.7.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液(编号S1)和空白对照(80%甲醇)适量,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图(图6)。结果显示,茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的分离度均大于1.5,理论板数均不低于8 000;空白对照不干扰测定。



注:1. 茵芋苷;2.7-羟基香豆素;3.7-羟基-8-甲氧基香豆素

Note: 1. skimmnin; 2. 7-hydroxycoumarin; 3. 7-hydroxy-8-methoxycoumarin

图6 混合对照品溶液、供试品溶液及空白对照的HPLC图

Fig 6 HPLC chromatograms of mixed control solution, test sample solution and blank control

2.7.3 线性关系考察 分别精密吸取“2.7.1(2)”项下混合对照品贮备液0.2、0.6、1.0、2.0、4.0、6.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,用甲醇稀释并定容,摇匀,得茵芋苷(6.088、18.264、30.440、60.880、121.760、182.640 μg/mL)、7-羟基香豆素(1.568、4.704、7.840、15.680、31.360、47.040 μg/mL)、7-羟基-8-甲氧基香豆素(1.096、3.288、5.480、10.960、21.920、32.880 μg/mL)系列混合对照品溶液,按“2.7.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(Y)、待测成分的质量浓度为横坐标(X)进行线性回归,结果如表3所示。由表3可知,3种待测成分在各自的质量浓度范围内与峰面积成良好的线性关系。

表3 茵芋苷等3种待测成分的线性关系考察结果

Tab 3 Results of linear relationship of 3 components such as skimmnin

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg/mL
茵芋苷	$Y=19.927X+2.894.2$	0.999 7	6.088~182.640
7-羟基香豆素	$Y=41.948X-61.7$	0.999 7	1.568~47.040
7-羟基-8-甲氧基香豆素	$Y=49.309X+7.763.9$	0.999 8	1.096~32.880

2.7.4 精密度试验 取“2.7.1(2)”项下混合对照品溶液适量,按“2.7.2”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素峰面积的RSD分别为0.23%、0.43%、0.36%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.7.5 稳定性试验 取同一供试品溶液(编号S1)适量,按“2.7.2”项下色谱条件分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时进样测定,记录峰面积。结果显示,茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素峰面积的RSD分别为1.21%、1.24%、1.34%(n=6),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.7.6 重复性试验 取同一批样品粉末(编号S1)约0.5 g,共6份,精密称定,分别按“2.7.1(1)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.7.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以外标法计算样品含量。结果显示,茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的平均含量分别为6.061、1.585、1.086 mg/g, RSD分别为0.71%、1.05%、1.48%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.7.7 加样回收率试验 精密称取同一批已知含量的样品粉末(编号S1)约0.25 g,共6份,精密加入“2.7.1(2)”项下混合对照品贮备液5 mL,按“2.7.1(1)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.7.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果如表4所示。由表4可知,本方法准确度良好。

2.7.8 耐用性试验 (1)不同色谱柱:分别采用Waters XBridge® C<sub>18</sub>、Waters SunFire® C<sub>18</sub>和Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>等3种不同色谱柱(规格均为250 mm×

表4 茵芋苷等3种待测成分的加样回收率试验结果 (n=6)

Tab 4 Results of recovery tests of 3 components such as skimmion (n=6)

成分	取样量, g	已知量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
茵芋苷	0.251 7	1.526	1.522	3.029	98.75	99.47	0.95
	0.253 2	1.535	1.522	3.066	100.59		
	0.250 8	1.520	1.522	3.028	99.08		
	0.255 4	1.548	1.522	3.081	100.72		
	0.251 9	1.527	1.522	3.027	98.55		
	0.254 6	1.543	1.522	3.052	99.15		
7-羟基香豆素	0.251 7	0.399	0.392	0.802	102.81	101.07	1.47
	0.253 2	0.401	0.392	0.796	100.77		
	0.250 8	0.398	0.392	0.799	102.30		
	0.255 4	0.405	0.392	0.804	101.79		
	0.251 9	0.399	0.392	0.789	99.49		
	0.254 6	0.404	0.392	0.793	99.23		
7-羟基-8-甲氧基香豆素	0.251 7	0.273	0.274	0.551	101.50	99.89	1.12
	0.253 2	0.275	0.274	0.548	99.64		
	0.250 8	0.272	0.274	0.541	98.18		
	0.255 4	0.277	0.274	0.552	100.36		
	0.251 9	0.274	0.274	0.545	98.91		
	0.254 6	0.276	0.274	0.552	100.73		

4.6 mm, 5 μm)测定同一供试品溶液(编号S1)中茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量,其余条件同“2.7.2”项。结果显示,3种待测成分的平均含量依次为6.045、1.601、1.097 mg/g, RSD分别为1.24%、1.16%、1.35% (n=3)。(2)不同HPLC仪:分别采用Waters e2695和Agilent 1260两台不同HPLC仪测定同一供试品溶液(编号S1)中茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量,其余条件同“2.7.2”项。结果显示,3种成分的平均含量依次为6.055、1.594、1.088 mg/g, RSD分别为0.94%、1.08%、1.52% (n=2)。上述结果均表明本方法耐用性良好。

2.7.9 样品含量测定 取10批消瘤藤药材样品,分别按“2.7.1(1)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.7.2”项下色谱条件进样测定,计算峰面积,以外标法计算各批药材中茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量,每批样品平行测定3次,结果如表5所示。

由表5可知,10批样品中茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量分别为1.337~9.534、0.348~2.236、0.083~1.088 mg/g,平均含量分别为4.295、1.073、0.417 mg/g。考虑到药材来源差异,本研究以略低于含量最低值设限,初步拟定本品中茵芋苷的含量不得少于1.30 mg/g,7-羟基香豆素的含量不得少于0.30 mg/g,7-羟基-8-甲氧基香豆素的含量不得少于0.06 mg/g。

表5 消瘤藤药材中茵芋苷等3种待测成分的含量测定结果(n=3, mg/g)

Tab 5 Results of content determination of 3 components such as skimmion in *P. tomentella* (n=3, mg/g)

编号	茵芋苷	7-羟基香豆素	7-羟基-8-甲氧基香豆素
S1	6.055	1.594	1.088
S2	3.808	1.424	0.778
S3	4.452	0.722	0.183
S4	3.973	0.678	0.174
S5	1.337	0.348	0.083
S6	1.522	0.449	0.089
S7	9.534	1.611	0.576
S8	2.929	0.810	0.221
S9	2.981	0.858	0.268
S10	6.362	2.236	0.712
平均值	4.295	1.073	0.417

### 3 讨论

#### 3.1 TLC鉴别条件的选择

笔者前期分别考察了不同展开剂[氯仿-乙酸乙酯(9:1, V/V)、氯仿-丙酮(9:1, V/V)、氯仿-丙酮(9.5:0.5, V/V)和正己烷-正丙醇(9:1, V/V)]、不同观察方法(紫外光灯254 nm、紫外光灯365 nm、日光)、不同展距(8、10、12 cm)对TLC鉴别结果的影响。结果显示,以氯仿-丙酮(9.5:0.5, V/V)为展开剂、展距为8 cm、在紫外光灯365 nm条件下观察到的分离效果较好,主斑点的比移值( $R_f$ )适宜,且斑点清晰。

#### 3.2 HPLC法供试品溶液制备方法的选择

笔者在前期研究中对消瘤藤药材超声提取和回流提取的结果进行了对比,发现回流提取的样品含量略高于超声提取,但回流提取所得杂质相对较多,同时考虑到超声提取比较方便,因此最终选择超声提取法来提取样品。在提取溶剂上,笔者曾对甲醇、无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇、80%甲醇的提取效果进行比较,发现采用80%甲醇提取所得样品含量较高,因此选择80%甲醇作为提取溶剂。在提取时间上,笔者发现提取40 min后样品含量无明显增加,故选择提取时间为40 min。

#### 3.3 HPLC条件的选择

笔者通过HPLC-二极管阵列检测器在210~400 nm波长范围内进行全波长扫描,可得茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素的最大吸收波长分别为318、324、321 nm,其中在320 nm波长下检测时各色谱峰的分度度均大于1.5且基线平稳,故综合各方面因素考虑,最终选择320 nm作为检测波长。笔者前期还对甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液、甲

醇-0.1%冰醋酸溶液、乙腈-0.1%冰醋酸溶液等流动相体系进行了比较,发现以乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相所得色谱峰的分离度和峰形较好,故选择其作为本研究中HPLC法的流动相。

### 3.4 HPLC法指标成分的选择

根据文献报道,从消瘤藤药材中可分离得到茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素等香豆素类化合物<sup>[6-8]</sup>。现代药理学研究发现,茵芋苷可治疗肾功能不全<sup>[19]</sup>;7-羟基香豆素对人膀胱癌细胞系E-J细胞株的增殖具有抑制作用<sup>[20]</sup>,并具有 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性和全齿复活线虫致死活性等<sup>[21]</sup>;7-羟基-8-甲氧基香豆素能抑制丙型肝炎病毒NS3/4A蛋白酶的活性<sup>[22]</sup>。三者的药理活性与消瘤藤散瘀止痛、消肿解毒的功效相符,故本研究选其作为指标性成分进行含量测定。

综上所述,本研究建立了瑶药消瘤藤的性状及显微鉴别方法,以7-羟基香豆素为指标成分的TLC鉴别方法,以及同时测定药材中茵芋苷、7-羟基香豆素和7-羟基-8-甲氧基香豆素含量的HPLC法,制订了该药材中水分、总灰分、醇溶性浸出物和上述3种有效成分的检测限度,所建标准可为消瘤藤药材的质量控制提供参考。但本研究只采集了广西各产地药材,且时间跨度较长、样本范围较为局限,后续研究还将采集其他省份药材进行研究,以建立更加完善的药材质量标准。

### 参考文献

[1] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴:第二册[M].北京:科学出版社,1972:111.

[2] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第三十五卷[M].北京:科学出版社,1995:175-177.

[3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:第四册[M].上海:上海科学技术出版社,1999:40-41.

[4] 广西植物研究所.广西植物志:第二卷[M].南宁:广西科学技术出版社,2005:296-299.

[5] 广西壮族自治区中医药研究所.广西药用植物名录[M].南宁:广西人民出版社,1986:203.

[6] 陆国寿,卢文杰,黄周锋,等.瑶药消瘤藤的化学成分分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(14):78-81.

[7] 王云卿,马国需,赵丹,等.瑶药星毛冠盖藤正丁醇部位化学成分研究[J].中国药学杂志,2017,52(18):1580-1584.

[8] 王云卿,马国需,梁琼平,等.瑶药“肿瘤藤”(星毛冠盖藤)

的化学成分研究[J].中草药,2016,47(24):4326-4330.

[9] 陈宇,钟盈盈,刘佳明,等.气相色谱-串联质谱法分析消瘤藤中挥发油成分[J].中国民族民间医药,2020,29(9):20-22.

[10] 胡筱希,刘瑛,黄建猷,等.瑶药消瘤藤体外抗肿瘤活性部位筛选[J].中药药理与临床,2019,35(5):52-56.

[11] 刘瑛,陆国寿,胡筱希,等.基于网络药理学的消瘤藤总香豆素抗肿瘤潜在机制探讨[J].中药药理与临床,2019,35(6):57-63.

[12] 刘瑛,陆国寿,王丽,等.消瘤藤醇提物对H22荷瘤鼠的抑瘤作用研究[J].中国药学杂志,2016,51(12):981-984.

[13] 黄周锋,陆国寿,卢文杰,等.星毛冠盖藤脂溶性成分及其抗氧化活性研究[J].中医药导报,2017,23(15):51-53.

[14] 李耀燕,裴艳艳,黄珊珊,等.瑶药肿瘤藤(星毛冠盖藤)的生药学研究[J].作物杂志,2018(1):62-65.

[15] 卢森华,黎强,樊文研,等.HPLC特征指纹图谱结合化学计量学评价不同产地消瘤藤的药材质量[J].现代中药研究与实践,2020,34(6):52-56.

[16] 李咏梅,余朋桂,肖冰梅.星毛冠盖藤不同药用部位的高效液相色谱分析[J].中国民族民间医药,2013,22(18):17-18,20.

[17] 肖冰梅,余朋桂,李咏梅,等.星毛冠盖藤的质量研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(13):131-133.

[18] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:59-60,114-115,232,234.

[19] 李法庆,刘东锋.一种茵芋苷的制备方法:CN 102911224 A [P].2013-02-06.

[20] 段志富,陈建伟,李详.伞形科药用植物中香豆素类成分及其药理作用研究现状[J].中国药房,2008,19(3):223-226.

[21] 许书慧,陈惠琴,范玉娇,等.黄皮种子中香豆素类化合物的分离、鉴定及其 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性和全齿复活线虫致死活性研究[J].中国药房,2019,30(4):518-522.

[22] 蒋太白,张洪,危英,等.HPLC同时测定山辣子皮中3种抗HCV NS3/4A蛋白酶香豆素的含量[J].中药材,2017,40(12):2895-2898.

(收稿日期:2021-04-06 修回日期:2021-09-22)

(编辑:胡晓霖)