

# 畚药小香勾中补骨脂素的定性鉴别与含量测定<sup>Δ</sup>

余华丽\*, 王伟影#, 毛菊华, 陈张金(丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0815-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.33

**摘要** 目的:建立畚药小香勾中补骨脂素的定性鉴别和含量测定方法。方法:采用薄层色谱(TLC)法进行定性鉴别,并采用高效液相色谱法进行含量测定。色谱柱为Agilent Zorbax XDB-C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(55:45, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,检测波长为246 nm,进样量为10 μl。结果:小香勾的TLC图斑点清晰、分离度好;补骨脂素的质量浓度在0.645 6~21.52 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率为99.61%,RSD=1.37%( $n=6$ )。结论:该方法简便易行、准确、重复性好,可用于畚药小香勾的质量控制。

**关键词** 畚药;小香勾;补骨脂素;薄层色谱法;高效液相色谱法

## Qualitative Identification and Content Determination of Psoralen in Traditional She Medicine Xiaoxianggou

YU Hua-li, WANG Wei-ying, MAO Ju-hua, CHEN Zhang-jin(Lishui Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Lishui 323000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for qualitative identification and content determination of psoralen in traditional She medicine Xiaoxianggou. METHODS: TLC method was adopted for qualitative identification, and HPLC method was used for the content determination. The determination was performed on Agilent Zorbax XDB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-water (55:45, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃, and detection wavelength was set at 246 nm. The sample size was 10 μl. RESULTS: TLC spots of Xiaoxianggou were clear and well-separated. The linear range of psoralen were 0.645 6-21.52 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ) with average recovery of 99.61% (RSD=1.37%,  $n=6$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of traditional She medicine Xiaoxianggou.

**KEYWORDS** Traditional She medicine; Xiaoxianggou; Psoralen; TLC; HPLC

择绿原酸作为白茅根配方颗粒特征图谱中的指标成分。

笔者曾比较了Megres5-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Lichrospher-C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm)及ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(100 mm×4.6 mm, 5 μm)3种色谱柱的分离效果,结果Megres5-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)的分离效果更为理想。笔者又筛选了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.05%磷酸水溶液等不同流动相系统,结果以乙腈-0.05%磷酸水溶液进行梯度洗脱,所得色谱图的基线平稳、峰形良好、分离度高。在供试品溶液的制备过程中,笔者比较了不同溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇、30%甲醇、70%乙醇、50%乙醇和30%乙醇)的提取效果,结果表明,30%乙醇作为提取溶剂测得样品中绿原酸的含量最高。

综上所述,本研究所建立的特征图谱精密性、稳定性、重复性良好,可为白茅根配方颗粒的鉴别和质量评价提供参考。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年

<sup>Δ</sup> 基金项目:丽水市科技局资助项目(No.2012CXTD09-05; 2012CXTD11-03)

\* 主管中药师。研究方向:中药材(饮片)质量控制及分析。电话:0578-2183956。E-mail:516739410@qq.com

# 通信作者:主管中药师。研究方向:中药材(饮片)质量控制及分析。电话:0578-2183956。E-mail:onlyying0508@gmail.com

版.北京:中国医药科技出版社,2010:99.

[2] 廖晖, Linda KB, David NL. 12味止血中药对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞产生一氧化氮的抑制作用[J]. 中国药房, 2007, 18(9):649.

[3] 胡汉昆, 刘薇芝, 刘萍, 等. 中药特征图谱技术在中药鉴定中的应用[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(11):936.

[4] 路金才, 孙启时, 王明雷, 等. 白茅根中芦竹素和白茅素的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(4):290.

[5] 赵燕燕, 曹悦, 孙启时. RP-HPLC法测定白茅根中Siderin含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(2):86.

[6] 赵燕燕, 贾凌云, 孙启时. 白茅根药材的指纹图谱[J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(5):352.

[7] 王海侠, 姚青春, 时维静, 等. 白茅根中绿原酸的提取与含量测定[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(4):331.

[8] 冯丽华, 江丰, 汪玢, 等. HPLC法测定白茅根中绿原酸的含量[J]. 江西化工, 2005(4):104.

[9] 焦昌梅, 乔善宝, 崔冬梅, 等. HPLC法测定不同产地白茅根中联苯双酯的含量[J]. 广东化工, 2011, 38(6):203.

(收稿日期:2014-06-07 修回日期:2014-11-21)

(编辑:孙冰)

畚药小香勾为桑科植物条叶榕 *Ficus pandurata* Hance var. *angustifolia* Cheng 和全叶榕 *F. pandurata* Hance var. *holophylla* Migo. 的干燥根及茎, 别名小康补、牛奶绳等, 分布于浙江、江西、福建、安徽等地, 生于山坡、路旁、旷野间, 全年可采收。小香勾为一种优良的药食两用植物。浙南地区的居民常在烹调荤菜时加入小香勾以增加菜肴的香味, 还可降低油腻; 而在药用方面, 畚族人认为小香勾具有利湿、健脾的功效, 可用于治疗消化不良、小儿疳积、腹泻、骨折、疝气等症<sup>[1]</sup>。有研究表明, 小香勾富含氨基酸、黄酮、多糖等多种化学成分<sup>[2-5]</sup>, 但仅有《浙江省中药炮制规范》(2005年版)<sup>[6]</sup>以畚药名收录了该品种, 但无具体检验项目, 且目前尚未见小香勾中补骨脂素的定性、定量研究报告。本研究以补骨脂素为指标性成分, 采用薄层色谱(TLC)法对其进行了鉴别, 并采用高效液相色谱(HPLC)法对其含量进行了测定, 旨在为小香勾药材的质量控制标准的制定提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Linomat-5型半自动点样仪和TLC数码成像系统(瑞士卡玛公司); 1260型HPLC仪, 配有二极管阵列检测器(美国安捷伦公司); XS105DU型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); DL-360D型智能超声波清洗器(上海之信仪器有限公司, 功率: 360 W, 频率: 40 kHz)。

### 1.2 试药

补骨脂素对照品(购自中国食品药品检定研究院, 批号: 110709-200505, 纯度: 100%); 正己烷、乙酸乙酯为分析纯, 甲醇为色谱纯, 水为纯净水(杭州娃哈哈集团)。

### 1.3 药材

10批小香勾药材均由本所中药专家鉴定为条叶榕 *F. pandurata* Hance var. *angustifolia* Cheng 和全叶榕 *F. pandurata* Hance var. *holophylla* Migo. 的干燥根和茎, 具体来源见表1(注: 水分采用烘干法在100℃测得)。

表1 小香勾药材来源

Tab 1 Source of Xiaoxianggou

药材品种	来源	采集时间	水分/%
全叶榕	温州市平阳县	20130825	9.7
	衢州市药王山	20130922	9.8
	寿宁市	20131216	8.1
	丽水市遂昌县	20140413	10.2
条叶榕	丽水市云和县赤石乡	20140510	9.7
	丽水市老竹村	20131026	7.9
	温州市泰顺县	20140315	8.3
	丽水市景宁县	20140410	10.1
	丽水市松阳县板桥村	20140502	9.0
	丽水市莲都区	20140511	10.5

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

取本品适量, 粉碎, 过2号筛, 取约0.5 g, 置于具塞锥形瓶中, 加甲醇20 ml, 超声处理30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲

醇1 ml使溶解, 即得供试品溶液。取补骨脂素对照品适量, 加甲醇制成每1 ml含0.5 mg的溶液, 作为对照品溶液。照TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]试验, 分别吸取上述供试品溶液、对照品溶液各5 μl, 点于同一硅胶G薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(7:3, V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。结果, 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蓝色荧光斑点。TLC图见图1。

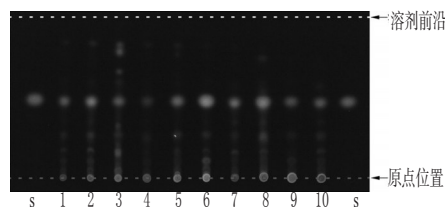


图1 补骨脂素的TLC图

1~10. 供试品; s. 补骨脂素对照品

Fig 1 TLC of psoralen

1-10. test samples; s. psoralen control

### 2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Agilent Zorbax XDB-C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(55:45, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 246 nm; 进样量: 10 μl。在此条件下, 补骨脂素与其他成分可达到基线分离, 分离度>1.5; 理论板数以补骨脂素峰计>9 000。色谱见图2。

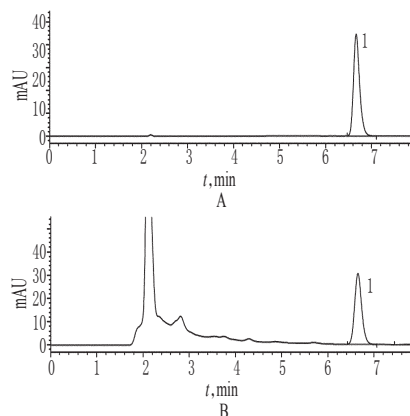


图2 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 补骨脂素

Fig 2 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; 1. psoralen

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为21.52 μg/ml的溶液, 作为对照品贮备液。精密吸取对照品贮备液适量, 加甲醇制成质量浓度为6.456 μg/ml的溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 粉碎, 过2号筛, 取约0.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇50 ml, 密塞, 称定质量, 超声提取1 h, 放冷至室温, 再次精密称定, 加甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 经0.45 μm微孔滤膜滤过, 取滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下对照品贮备液适

量,分别加甲醇制成质量浓度为0.645 6、2.582、6.456、12.91、21.52 μg/ml的系列对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、补骨脂素的质量浓度(x, μg/ml)为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=79.221x+1.8314$ ( $r=0.9999$ )。结果表明,补骨脂素的质量浓度在0.645 6~21.52 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下的对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件重复进样5次,记录峰面积。结果,RSD=0.56%( $n=5$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取按“2.2.3”项下方法制备的同一供试品溶液(采集时间:20140502)适量,分别于放置0、4、8、12、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件重复进样5次,记录峰面积。结果,RSD=0.45%( $n=5$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批小香勾药材(采集时间:20140502)粉末6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,RSD=0.83%( $n=6$ ),表明该方法重复性较好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量的样品(采集时间:20140502)共6份,各约0.25 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,分别精密加入补骨脂素对照品溶液(质量浓度:0.161 4 mg/ml)1 ml,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery tests( $n=6$ )

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.153 4	0.161 4	0.311 8	98.14	99.61	1.37
0.154 1	0.161 4	0.318 5	101.86		
0.153 7	0.161 4	0.315 9	100.50		
0.152 2	0.161 4	0.312 0	99.01		
0.153 6	0.161 4	0.312 8	98.64		
0.153 3	0.161 4	0.313 9	99.50		

2.2.9 样品含量测定 精密称取10批药材各适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量,结果见表2(以干燥品计)。

表2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination( $n=3$ )

药材品种	采集时间	补骨脂素质量分数,%
条叶榕	20131026	0.039
	20140315	0.013
	20140410	0.025
	20140502	0.051
	20140511	0.034
全叶榕	20130825	0.119
	20130922	0.068
	20131216	0.112
	20140413	0.125
	20140510	0.107

### 3 讨论

笔者在预试验中发现,芦丁、槲皮素等黄酮类成分并不是每批次都存在,而且其含量少、不适宜用作指标性成分。由于小香勾具有特殊的香气,笔者参考小香勾近缘植物五指毛桃(桑科榕属粗叶榕的干燥根)的化学成分分布情况<sup>[7-8]</sup>,选取具有抗菌、抗病毒、抗凝血、抑制肿瘤、免疫调节等作用的补骨脂素为其指标成分。结果表明,补骨脂素在小香勾中含量高且较稳定,因此选取补骨脂素作为指标性成分可行。

本研究参照2010年版《中国药典》(一部)补骨脂素项下的TLC鉴别方法<sup>[9]</sup>,比较了甲醇、乙酸乙酯超声提取的斑点颜色,结果用甲醇提取的斑点颜色与对照品斑点颜色一致;同时,考察了正己烷-乙酸乙酯(4:1、7:3、V/V)两种不同比例的溶液为展开剂,结果以7:3分离效果好,R<sub>f</sub>值为0.5。

含量测定中,笔者在参考相关文献<sup>[9-10]</sup>的基础上,考察了提取溶剂甲醇的浓度(45%甲醇、60%甲醇、甲醇)、用量(25、50、80、100 ml)、提取方法(索式提取、加热回流提取、超声提取)以及提取时间(30、60、120 min)对测定结果的影响。根据结果并考虑到操作的简便性,最终选择了以甲醇50 ml为溶剂超声提取60 min的提取方法。

综上所述,该方法简便易行、准确、重复性好,可用于兽药小香勾的质量控制。

(致谢:感谢2015年版《浙江省中药炮制规范》编写组葛陇老师对本文的指导)

### 参考文献

- [1] 雷后兴,李水福.中国兽医医药学[M].北京:中国中医药出版社,2007:307-308.
- [2] 应跃跃,王喜周,何国庆.小香勾营养价值分析及黄酮研究[D].杭州:浙江大学,2012.
- [3] 应跃跃.条叶榕营养成分分析及黄酮含量的测定[J].食品工业科技,2012,33(14):90.
- [4] 王喜周,应跃跃,张昊,等.天仙果根总黄酮提取工艺研究[J].安徽农业科学,2013(2):601.
- [5] 鄢连和,雷后兴,李水福,等.浙江畲族医药研发概况及展望[J].中国民族医药杂志,2006(5):91.
- [6] 浙江省食品药品监督管理局.浙江省中药炮制规范[S].2005.
- [7] 江滨,刘占强,曾元儿,等.五指毛桃化学成分研究[J].中草药,2005,36(8):1 141.
- [8] 王晓平,黄翔,陆奇丰,等.HPLC测定不同叶型五指毛桃中补骨脂素的含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(5):93.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:174.
- [10] 曾宝,黄晓其,苏子仁.HPLC法同时测定益肾颗粒中淫羊藿苷、补骨脂素及异补骨脂素的含量[J].中国药房,2008,19(6):442.

(收稿日期:2014-09-03 修回日期:2014-12-10)

(编辑:孙冰)