

无花果叶的质量分析

王红霞, 郑岩, 陈随清*, 朱晓丛, 张飞
(河南中医学院药学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:通过对无花果叶的定性、定量分析研究,为无花果叶的开发利用、质量标准的制定提供依据。方法:运用薄层色谱、紫外光谱法对无花果叶进行定性理化特征鉴定,以补骨脂素、佛手柑内酯为对照品,运用 HPLC 对无花果叶进行含量测定。结果:薄层色谱法鉴别色谱斑点清晰,专属性强;无花果叶主成分在 290 nm 处紫外吸收最大;补骨脂素在 0.083 2 ~ 0.832 μg 线性关系良好,回收率 97.0% ~ 104.1%,RSD 2.80%;佛手柑内酯在 0.038 4 ~ 0.230 4 μg 线性关系良好,回收率在 97.1% ~ 103.4%,RSD 2.19%。结论:本文研究结果可作为无花果叶质量标准制定提供定性、定量方面的依据。

[关键词] 无花果叶;定性、定量分析研究;薄层色谱;紫外吸收光谱法;高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)02-0064-04

Determination of Psoralen in Ficus Leaves

WANG Hong-xia, ZHENG Yan, CHEN Sui-qing*, ZHU Xiao-cong, ZHANG Fei

(Pharmaceutical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** The research provided reference for the exploitation and quantity control of Ficus leaves. by determinating quality and quantity analysis of Ficus leaves. **Method:** Determine the qualitative analysis of Ficus leaves by TLC and UV and determinate the quantity of psoralen and bergapten range by HPLC. **Result:** Between 0.083 2-0.832 μg psoralen has a good linearity, recoveries between the 97.0% -104.1%, and RSD is 2.80%; bergapten range between 0.038 4-0.230 4 μg has a good linearity, recoveries between 97.1% -103.4%, RSD is 2.19%. Under the conditions of two ingredients stability, reproducibility and precision are good. **Conclusion:** The study result can be used to provide basis to determine the quality control of Ficus leaves.

[Key words] Ficus leaves; quality and quantity analysis research; TLC; UV; HPLC

无花果叶来源于桑科 Moraceae 植物无花果 *Ficus carica* L. 的叶^[1]。别名奶浆果、映日果、蜜果、品仙果等,是古老的树种,《圣经》和《古兰经》就有记载。无花果原产地中海及东南亚,现我国各地均有栽培^[2],主要分布于新疆、江苏、浙江、福建、山东、上海、四川、陕西、甘肃、江西、广东、河南等省,庭院

栽种居多。有悠久的栽培历史,最早载于明·朱棣《救荒本草》,是开发应用较广的经济植物。其果实富含营养,叶、根均含药物成分^[3]。无花果叶在临床主要用于治疗白癜风、痔疮、小儿腹泻等症^[4]。近年来对于无花果及其叶的化学成分研究正逐步深入,无花果作为药食兼优的植物,尤其是它抗白癜风、肿瘤、抗氧化、降血脂、降血糖等作用令人关注。无花果叶含有补骨脂素、香柠檬内酯、棕榈酸、二十八烷等多种化学成分,另含挥发油,锶、锰、铜、锌、铬、镍、硒等微量元素^[5]。目前《卫生部药品标准·维吾尔分册》中收载的消白热斯酊剂处方中的君药就是无花果叶。本课题主要运用薄层色谱法、紫外分光光度法对无花果叶进行定性理化特征鉴定;运用 HPLC 对无花果叶中主成分补骨脂素、佛手柑内酯

[收稿日期] 20100625(008)

[基金项目] 郑州市科技攻关项目(14205113);河南中医学院苗圃工程(MP-2008-16)

[第一作者] 王红霞,教授,研究方向:中药品种整理与质量标准研究, Tel: 0371-66364376, E-mail: whx5510@163.com

[通讯作者] * 陈随清, Tel: 0371-65676686, E-mail: suiqingchen@sohu.com

进行含量测定,旨在为无花果叶的资源开发、生药学研究及质量标准制定,提供科学依据。

1 仪器与试剂

UV-2201型紫外分光光度计,日本;KDM型调温电热套(山东菏泽石油化工学校仪器设备厂)、数控超声波清洗器(KQ-500DV,昆明市超声仪器有限公司)、岛津LC-20AT高效液相色谱仪(CTO-40AS vp型柱温箱、SPD-20A型紫外检测器、CBM-402型工作站);WD-9403C型紫外分析仪;梅特勒1/10万天平(Mettler Toledo AB 135-S);分析天平(BS2242S,北京赛多利斯仪器系统有限公司)等。补骨脂素为中国药品生物制品检定所提供,批号110739-200814,含量>99%;佛手柑内酯为上海融禾医药科技发展有限公司提供,批号091110,含量>98%。无花果叶1~10批分别采自河南省郑州市,经河南中医学院生药教研室陈随清教授鉴定为桑科Moraceae植物无花果*F. carica*的叶。HG/2354-95硅胶G(化学纯,青岛海洋化工有限公司);羧甲基纤维素钠(化学纯,天津市凯通化学试剂有限公司);甲醇、醋酸丁酯、甲酸、乙醇等(以上均为分析纯),乙腈(色谱纯,天津市化学试剂三厂);水为双蒸水(自制)。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别 分别以补骨脂素、佛手柑内酯为对照品,按照《中国药典》^[6]项下进行薄层色谱鉴别。

2.1.1 供试品溶液的制备 称取无花果叶粗粉0.5g,置具塞试管中,加甲醇1mL,超声提取10min,取出过滤,滤液作为供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 取补骨脂素、佛手柑内酯对照品,分别加甲醇溶解并定容为2g·L⁻¹的对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录)项下试验,分别吸取上述供试品溶液与2种对照品溶液各10μL,分别点于以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯(3:2)为展开剂展开,取出晾干,置紫外光灯下(245nm)检视,供试品色谱中,样品分别在对照品相同位置显示相同颜色荧光斑点。

2.2 紫外-可见光谱鉴别

2.2.1 供试品的制备 取无花果叶0.5g,置50mL具塞锥形瓶中,加甲醇20mL,超声提取10min,过滤,滤液作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 以制备供试品溶液做空白对照。

2.2.3 紫外-可见光光谱鉴别 参照文献^[6]紫外-可见分光光度法,在190~900nm进行吸收扫描,供试品溶液在290nm处有明显吸收,紫外光谱见图1。

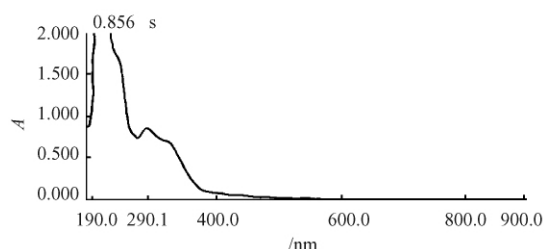


图1 无花果叶紫外光谱图

2.3 高效液相法测定无花果叶中补骨脂素、佛手柑内脂的含量

2.3.1 色谱条件 phenomenex hydro ODS C₁₈ (4.6mm×250mm, 4μm)色谱柱;流动相甲醇-水(53:47),流速1.0mL·min⁻¹,检测波长222nm,柱温32℃。在上述色谱条件下,补骨脂素、佛手柑内酯与其他成分分离良好。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称取补骨脂素对照品适量,加甲醇制成0.0832g·L⁻¹的对照品溶液;精密称取佛手柑内酯对照品适量,加甲醇制成0.0192g·L⁻¹的对照品溶液。备用。

2.3.3 供试品溶液制备 取无花果叶粗粉约0.5g,精密称定,置100mL三角瓶中,精密加入75%甲醇50mL,称重,浸泡30min,超声处理60min,放置至室温,加75%甲醇稀释至刻度,摇匀,0.45μm微孔滤膜滤过,即得。补骨脂素、佛手柑内酯对照品及样品见图2。

2.3.4 线性关系的考察 精密吸取补骨脂素对照品溶液0.00832,0.01664,0.03328,0.04992,0.06656,0.08320g·L⁻¹,按照上述色谱条件进行测定,记录峰面积,以对照品进样量(μL)为横坐标(X),以峰面积积分为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程 $Y = 5\,945\,985X - 54\,604.42$, $r = 0.9999$;线性范围0.0832~0.832μg。

精密吸取佛手柑内酯对照品溶液,质量浓度分别为0.00384,0.00768,0.01152,0.01536,0.01920,0.02304g·L⁻¹,按照上述色谱条件进行测定。以对照品进样量(μL)为横坐标(X),以峰面积积分为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程为 $Y =$

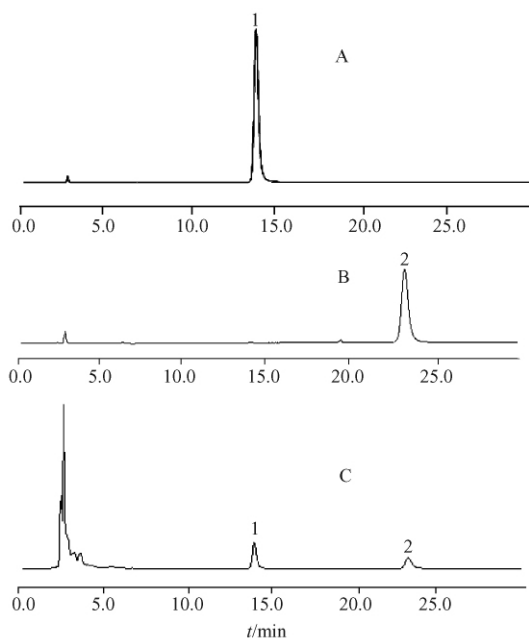


图 2 无花果叶 HPLC 图

A. 补骨脂素; B. 佛手柑内酯; C. 无花果叶样品

10 232 300X - 47 025.66, $r = 0.999 9$, 线性范围 0.038 4 ~ 0.230 4 μg 。

2.3.5 精密性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 分别测定峰面积, 结果补骨脂素 RSD 0.60%; 佛手柑内酯 RSD 0.55%。表明精密性符合要求。

2.3.6 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 分别于 0, 2, 6, 12, 24, 48 h 进样, 按照上述色谱条件分别测定补骨脂素、佛手柑内酯的峰面积, RSD 分别为 0.85%, 1.88%。表明供试品溶液在 48 h 内较稳定。

2.3.7 重复性试验 精密称取同一药材 6 份, 按照供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液, 各精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪, 分别测定补骨脂素与佛手柑内酯的含量, 结果补骨脂素 RSD 2.3%; 佛手柑内酯 RSD 2.5%。表明本试验方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取 6 份同一批已知补骨脂素 ($2.62 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 和佛手柑内酯 ($1.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 含量的无花果叶药材粉末各约 0.3 g, 精密称定后, 分别精密加入补骨脂素溶液 ($0.702 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 与佛手柑内酯的溶液 $0.299 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 550 μL , 按照供试品溶液制备方法制备, 按照上述色谱条件进样, 测定含量并计算加样回收率, 结果补骨脂素平均回收率 102.1%, RSD 2.80%; 佛手柑内酯平均回收率 101.0%, RSD 2.19%。见表 1~2。

表 1 无花果叶中补骨脂素加样回收率

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.299 9	0.785 7	0.386 1	1.160	97.0	102.1	2.80
0.300 2	0.786 5	0.386 1	1.174	100.5		
0.300 4	0.787 0	0.386 1	1.189	104.1		
0.300 2	0.786 5	0.386 1	1.185	103.4		
0.300 2	0.786 5	0.386 1	1.182	102.4		
0.299 8	0.785 5	0.386 1	1.19	103.6		

表 2 无花果叶中佛手柑内酯加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.299 9	0.311 9	0.164 5	0.471 7	97.1	101.0	2.19
0.300 2	0.312 2	0.164 5	0.477 6	100.5		
0.300 4	0.312 4	0.164 5	0.477 8	100.7		
0.300 2	0.312 2	0.164 5	0.480 9	102.7		
0.300 0	0.312 0	0.164 5	0.481 9	103.4		
0.299 8	0.311 8	0.164 5	0.479 5	101.6		

2.4 无花果叶样品含量测定 取 10 批无花果叶药材粗粉各约 0.5 g, 分别精密称定, 按供试品溶液制备法制备成供试液, 按照上述色谱条件测定样品中补骨脂素、佛手柑内酯的含量, 结果见表 3。

表 3 无花果叶中 2 种成分的含量测定

No.	取样量 /g	补骨脂素峰面积	补骨脂素含量 /%	佛手柑内酯峰面积	佛手柑内酯含量 /%
1	0.500 1	1 538 268.7	0.268	1 015 798.4	0.104
2	0.500 0	1 479 795.5	0.258	1 016 724.6	0.104
3	0.499 6	1 493 345.2	0.260	1 010 538.5	0.103
4	0.500 4	1 527 721.8	0.266	1 065 838.2	0.109
5	0.500 5	1 445 501.8	0.252	990 919.1	0.101
6	0.500 3	1 524 043.5	0.265	1 011 159.7	0.103
7	0.500 5	1 325 951.3	0.232	512 209.4	0.055
8	0.500 6	1 369 181.4	0.239	529 068.7	0.056
9	0.500 8	1 354 563.4	0.237	562 548.8	0.060
10	0.500 2	1 484 737.7	0.259	713 696.0	0.074

从表 3 可见, 补骨脂素在 0.232% ~ 0.268%, 平均值 0.254%; 佛手柑内酯在 0.055% ~ 0.109%, 平均值 0.087%。

3 讨论

3.1 无花果叶定性鉴别 试验以补骨脂素、佛手柑内酯为对照品; 以石油醚-乙酸乙酯 (3:2) 为展开剂, 对无花果叶进行薄层色谱定性分析试验, 结果供试

品色谱在与对照品相同位置显示相同颜色荧光斑点。薄层色谱鉴别色谱斑点清晰,专属性强;试验对无花果叶进行紫外光谱定性鉴别,在190~900 nm进行吸收扫描,无花果叶主成分在290 nm处有明显吸收,方法简单、准确。

3.2 供试品制备方法的选择 分别以加热回流、超声提取这2种方法提取,考察结果加热回流提取方法对所测成分有较大损失,超声提取方法对所测成分的提取含量较高;分别以甲醇、75%甲醇、50%甲醇进行提取,考察结果表明以75%的甲醇提取效率最高;分别进行浸泡30 min、超声30 min;浸泡30 min 超声60 min;浸泡30 min 超声90 min的考察,考察结果浸泡30 min 超声60 min 提取率最高。故确定以超声提取方法提取样品;以75%的甲醇浸泡30 min 超声60 min 用于供试品的提取。

3.3 流动相的选择 试验考察了5种不同条件的流动相乙腈-水(55:45),乙腈-水(50:50),乙腈-水(35:65),甲醇-水(55:45),甲醇-水(65:35),甲醇-水(53:47)进行了系统适用性试验,试验结果表明在以甲醇-水(53:47)作流动相时补骨脂素峰、佛手柑内酯峰能与其他成分有效分离,且基线较平稳,杂质峰较少,峰面积与之比较相差不大,因此确定以甲

醇-水(53:47)作流动相。

3.4 检测波长的选择 关于检测波长的选定,分别选用222 245 290 nm进行考察,结果表明补骨脂素在245 nm处有较大吸收,佛手柑内酯在222 nm处有较大吸收,鉴于佛手柑内酯含量比较低,因此选用222 nm作为本试验的检测波长。

本试验方法准确、灵敏、简便、快速、重现性好。研究结果可为无花果叶资源开发、利用及质量标准制定,在定性、定量方面的研究提供一定依据。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 维吾尔药卷[M]. 上海:科技出版社,2005:89.
- [2] 张华英. 无花果的研究进展与产业化发展对策[J]. 资源开发与市场,2003,19(5).
- [3] 刘弘,赵丽娅. 无花果叶的化学及药理研究进展[J]. 华夏医学,2006,19(5):1049.
- [4] 叶华,谢绍诗,张文清. 无花果叶、根的药理研究进展[J]. 海峡药学,2006,18(6):3.
- [5] 吴军正,司徒镇强,王为,等. 补骨脂素对黏液表皮样癌的抑制作用[J]. 实用口腔医学杂志,1990,6(4):322.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2010:30,34.

[责任编辑 顾雪竹]