

差别较大。其中,花初期时,以叶中生物碱最高,花序次之,茎最低;至花盛期时,各个部位的生物碱均明显降低,但仍以叶最高;至果熟期时,各个部位的生物碱降低更为明显,茎中生物碱甚至难以检测到。提示益母草药材以叶多、花序多为佳,个大茎粗并不代表其品质好。

2.6 表3中益母草的叶和花序的生物碱含有量相对较高,经分析,益母草叶质量占全草的35%左右,花序为5%左右,而益母草的茎占60%左右,但由于其生物碱含有量相对较低,故表2中全草中的生物碱量也相对较低。这也提示益母草的最佳采收期应在盛叶期至花初期。

参考文献:

- [1] 阮金兰,杜俊蓉,曾庆忠,等. 益母草的化学、药理和临床研究进展[J]. 中草药, 2003, 34(11): 15-19.
[2] 楼之岑,沈圆. 益母草的生药学研究[J]. 药学报, 1954, 2(2): 129-138.

- [3] 可燕,车生泉. 不同产地益母草总生物碱含量的比较[J]. 中草药, 1999, 30(4): 270-271.
[4] 范美华,王健鑫,李鹏,等. 益母草的研究进展[J]. 中药药物与临床, 2006, 6(7): 528.
[5] 张娴,彭国平. 益母草属化学成分研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2): 162.
[6] 金阳. 法测定复方益母草颗粒中盐酸水苏碱的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(6): 53.
[7] 国家药典委员会. 中国药典:2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 272.
[8] 徐履琴. 用硫代氰酸铬铵剩余比色法测定益母草中生物碱[J]. 中草药, 1985(11): 7-8.
[9] 卢日刚. 分光光度法测定益母草冲剂中生物碱的含量[J]. 药学报, 1986, 21(9): 522-524.
[10] 周世玉,徐智明. 薄层扫描法测定益母草膏中盐酸水苏碱的含量[J]. 华西药学杂志, 1999, 14(5-6): 395-396.
[11] 杨雪萍,何召允. HPLC法测定安宫止血颗粒中盐酸水苏碱的含量[J]. 江西中医药, 2007, 38(2): 51.
[12] 严优苻,李卫民,高英,等. HPLC法测定益母草不同制剂中水苏碱[J]. 中草药, 2006, 37(1): 70-72.

瑶药地钻(蔓性千斤拔)药材质量标准研究

王 硕^{1,2}, 袁经权^{1,3}, 周小雷¹, 龚小妹¹, 陈乾平¹, 缪剑华^{1*}

(1. 广西药用植物研究所姚新生院士重点实验室, 广西 南宁 530023; 2. 广西医科大学, 广西 南宁 5300021; 3. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

摘要: 目的 制定瑶药地钻(蔓性千斤拔)药材质量标准,为药用植物资源的开发利用提供科学依据。方法 生药学研究,浸出物测定法,灰分测定法,水分测定法,薄层色谱法及HPLC色谱法。结果 对蔓性千斤拔药材的性状、显微特征进行了描述;对10个不同产地蔓性千斤拔药材的浸出物、总灰分、酸不溶灰分和水分进行了测定;同时对其活性成分染料木素和染料木苷进行了薄层定性鉴别和HPLC定量研究。结论 通过研究制定了蔓性千斤拔药材的质量控制标准。

关键词: 蔓性千斤拔; 药材质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)10-1767-04

蔓性千斤拔始载于《植物名实图考》^[1],为瑶族地区常用药,称其为地钻,为豆科千斤拔属植物蔓性千斤拔 *Flemingiae philippinensis* (Merr. et Rolfe) Li 的根^[2]。广泛分布于我国云南、四川、贵州、湖南、广西、广东、福建和台湾等地^[3],具有祛风除湿、舒筋活络、强筋壮骨、消炎止痛、活血化瘀、祛风利湿等功效,被广泛用于妇科、风湿痹痛等类型的中成药生

产^[4],如妇科千金片、金鸡冲剂、金鸡胶囊、补血调经片、壮腰健肾丸、活络止痛丸、复方海蛇酊、复方挫伤灵、脑萎缩丸等^[5-7],研究表明蔓性千斤含有蔓性千斤拔素 C、蔓性千斤拔素 D、5,7,3',4'-四羟基-6,8-双异戊烯基异黄酮、flemichin D、nC₂₂-C₃₀烷酸、β-谷甾醇、羽扇豆醇^[8]、α-衣兰烯、异长叶烯、8-石竹烯、卡达烯、金合欢醇异构体^[9]、iupinifolin、染料木

收稿日期: 2011-04-07

基金项目: 桂科能(10100027-3); 桂科攻(0815005-21)

作者简介: 王 硕(1973—),男,博士生,主要从事新药研发工作。Tel: (0771) 2443136, E-mail: ws428@163.com

* 通信作者: 缪剑华,男,博士,研究员。Tel: (0771) 5611352, E-mail: mjh1962@vip163.com

苷(genistin)、槐属苷、大黄酚、大黄素甲醚、大黄素、
岛青霉素、咖啡酸二十八烷酯、单棕榈酸甘油酯、滨
蒿内酯、水杨酸、对甲氧基苯丙酸、白桦酸^[10]、染料
木素(genistein)、dorsmanins、osajin、eriosematin、lu-
pinalbinA、3'-O-甲基香豌豆苷^[11]。现代药理研究表
明:千斤拔具有镇痛和抗炎作用^[12]、对周围神经损
伤的保护作用^[13]、对脑组织及血脑屏障的保护作
用^[14]、抑制血栓形成^[15]等作用。蔓性千斤拔为广
西中药材标准中收载品种^[14],但对其药材未作定量
测定要求,为了更好地开发利用这一植物资源,我们
参考其内容,结合药典规定对10个不同产地样品从
药材性状、显微特征、浸出物、总灰分、酸不溶性灰分
和水分进行了测定,采用了TLC及HPLC进行了定
性、定量研究,为制定蔓性千斤拔药材的质控标准、
开发新药奠定了基础。

1 仪器与试剂

仪器:210型高效色谱仪(美国VARIAN公司);
KQ-5200型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有
限公司);电子分析天平(CP2250D,Sartorius);LEI-
CA生物显微镜(德国LaiLa);SX2-4JOA箱式电阻
炉(上海比尔得仪器实业有限公司);101-1型电热
鼓风干燥箱(上海沪南科学仪器联营厂);W201型
恒温浴锅(上海申生科技有限公司);高速万能粉碎
机(天津泰斯特仪器有限公司)。

试剂:甲醇、乙腈为色谱纯(美国Fisher公司);
水为超纯水;甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯为分析纯
(分析纯,成都市科龙化工试剂厂)。

药材:蔓性千斤拔药材采自广西不同的产地,经
马小军研究员鉴定为豆科千斤拔属植物蔓性千斤拔
Flemingiae Philippinensis(Merr. et Rolfe) Li。

对照品:染料木素(上海同田生物技术有限公
司,批号:10020611);染料木苷(上海同田生物技术
有限公司,批号:09062911)。

2 方法与结果

2.1 鉴别

2.1.1 粉末显微特征 粉末灰黄色。色素红棕色,
方形或不规则形,大小不一。淀粉粒众多,单粒类圆
形、椭圆形、多角形,脐点点状、人字形、十字形等。
复粒有2-5分粒组成。木栓细胞棕黄色,类方形或
多角形。草酸钙方晶少见。多具缘纹孔导管,纹孔
密。纤维成束或单个。

2.1.2 薄层鉴别 取千斤拔药材粉末2g,置于
100 mL具磨口塞锥形瓶中,加入80%的乙醇50
mL,超声提取30 min,过滤,滤渣用80%的乙醇冲洗

干净,与滤纸一并放入100 mL具磨口塞锥形瓶中,
加入80%的乙醇50 mL,超声提取30 min,过滤,合
并滤液,减压蒸干,用甲醇转溶至10 mL量瓶中并定
容,摇匀,作为供试品液。另取染料木苷对照品,加
甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。
照薄层色谱法(中国药典2010年版一部附录VB)
试验,吸取不同产地供试品溶液各10 μL、对照品溶
液5 μL,分别点在同硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-
甲醇-冰乙酸(9:1:2)为展开剂,展开,取出,晾
干,置紫外灯下(254 nm)检视,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。结果见图1。另取染料木素对照品,加甲醇制成
每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。照薄层
色谱法(中国药典2010年版一部附录VB)试验,吸
取不同产地供试品溶液各10 μL、对照品溶液5 μL,
分别点在同硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙
酯-冰乙酸(6:3:1)为展开剂,展开,取出,晾干,
置紫外灯下(254 nm)检视,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。结果见图2。

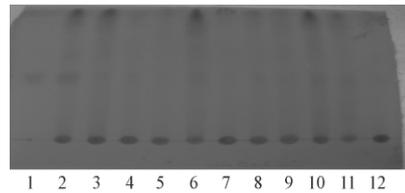


图1 千斤拔药材中染料木苷的TLC图

1. 染料木苷对照品 2. 千斤拔药材供试品+染料木苷对照品
3~12. 10个不同产地千斤拔药材供试品

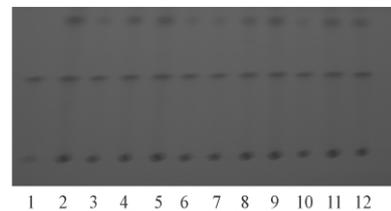


图2 千斤拔药材中染料木素的TLC图

1. 染料木素对照品 2. 千斤拔药材供试品+染料木素对照品
3~12. 10个不同产地千斤拔药材供试品

2.1.3 理化鉴别 蔓性千斤拔药材水提液于蒸发
皿中,加入斐林试剂,在水浴上加热数分钟,观察,结
果颜色由墨绿色变为砖红色(检查多糖成分)。

2.2 浸出物、总灰分、酸不溶性灰分和水分的测定

2.2.1 测定方法 浸出物测定参照药典2010年版
一部附录XA浸出物测定法,采用冷浸法测定醇溶
性浸出物,乙醇为95%;总灰分、酸不溶性灰分测定
参照药典2010年版一部附录IXK灰分测定法;水分

测定参照药典 2010 年版一部附录 IX H 水分测定法 (烘干法)。

2.2.2 测定结果 10 个不同产地的样品的总灰分结果在 3.17% ~ 6.08% 之间,平均值为 4.55%。酸不溶性灰分结果在 0.52% ~ 1.82% 之间,平均值为 0.98%。水浸出物结果在 8.59% ~ 16.11%,平均 11.67%。醇浸出物结果 3.92% ~ 10.44%,平均 6.74%。水分结果在 5.30% ~ 10.95%,平均 9.11%。鉴于本品来自于野生资源,产地和采收情况比较复杂,灰分限量按照目前检查样品的平均值适当上浮,暂定为总灰分不得过 8%、酸不溶性灰分不得过 2%、水浸出物不得少于 7%、醇浸出物不得少于 4%、水分不得大于 10%。测定结果见表 1。

表 1 各产地千斤拔水分、灰分及浸出物测定结果

Tab. 1 Results of moisture, ash and extract in *Flemingia philippinensis*

产地	水分 /%	总灰分 /%	酸不溶 灰分/%	水浸出 物/%	95%乙醇 浸出物/%
广西荔浦城郊	8.51	3.73	0.74	16.11	7.87
广西荔浦青山	8.08	5.57	1.82	12.06	6.37
广西昭平市场	9.31	3.72	0.52	13.24	7.34
广西南丹路生	5.3	5.42	1.42	9.16	8.23
广西昭平城郊	8.99	4.11	1.05	12.69	3.92
广西凤山	10.86	4.43	0.87	9.81	4.49
广西凭祥	9.91	6.08	1.37	12.62	7.3
广西西林城郊	10.31	3.17	0.74	9.54	4.32
广西富川	10.95	4.99	0.73	8.59	7.07
广西融安	8.91	4.29	0.54	12.91	10.44
平均值	9.11	4.55	0.98	11.67	6.74

2.3 染料木素和染料木苷的测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性实验 色谱柱:迪马 C₁₈(4.6 mm × 250 mm 5 μm) 流动相: A 相为甲醇-乙腈(8:1), B 相为 0.06% 磷酸水 梯度洗脱(20% ~ 60% A 0 ~ 30 min): 检测波长为 255 nm,柱温为 30 °C,体积流量为 1.0 mL/min。在上述条件下样品中染料木素和染料木苷与其他组分能够达到基线分离,与相邻的色谱峰分离度大于 1.5,染料木素和染料木苷的理论塔板数不小于 5 000,结果图 3。

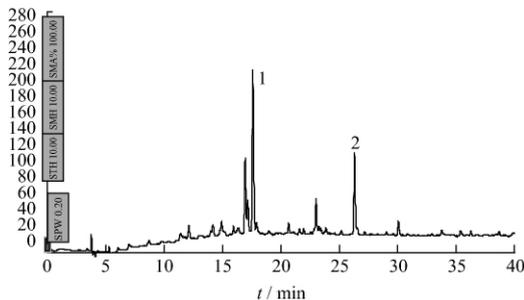


图 3 蔓性千斤拔药材供试品 HPLC 图谱

2.3.2 供试品样溶液的制备 同 2.1.2 项下供试品液的制备,最后以 0.45 μm 的微孔滤膜过滤即得。

2.3.3 线性关系的考察 精密称定染料木素对照品 0.010 65 g、染料木苷 0.010 25 g,置 10 mL 量瓶中,用色谱甲醇溶解定容至刻度摇匀,得混标对照品液 A(其中染料木素质量浓度为 1.065 mg/mL、染料木苷质量浓度为 1.025 mg/mL),从 A 中精密量取 2 mL,置 100 mL 量瓶中,用色谱甲醇稀释定容至刻度,得混标对照品液 B(其中染料木素质量浓度为 0.021 3 mg/mL、染料木苷质量浓度为 0.020 5 mg/mL),B 摇匀后以 0.45 μm 的滤液微孔滤膜过滤,自动进样 4、6、8、10、12、14 μL,以流动相按 2.1.2 项条件层析,体积流量:1.0 mL/min,以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归,得标准曲线方程为:染料木素: $Y = 131.19X + 4.92$ ($r = 0.999 1$)、染料木苷: $Y = 88.64X + 3.48$ ($r = 0.999 3$)。结果表明:染料木素对照品进样量在 0.085 2 μg ~ 0.298 2 μg 之间、染料木苷对照品进样量在 0.082 0 μg ~ 0.287 0 μg 之间时,进样量与峰面积之间有良好的线性关系。样品溶液按标准曲线相同的色谱条件进样,并根据标准曲线计算样品的质量分数。

2.3.4 精密度考察 取染料木素和染料木苷混标 B 进样 4 μL,连续进样 6 次,测定峰面积,染料木素和染料木苷的 RSD 值分别为 0.54%、0.66%。

2.3.5 稳定性考察 取千斤拔药材粉末 2 g,按 2.1.1 项制备供试品,于 0、2、4、6、8、12 h 进样 10 μL,按上述色谱条件测定峰面积,染料木素和染料木苷的 RSD 值分别为 1.875%、1.246%。结果表明,供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.6 重复性考察 取千斤拔药材粉末 2 g,精密称定,共 6 份,按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,进样 10 μL,染料木素和染料木苷的 RSD 值分别为 1.233%、1.729%。

2.3.7 回收率试验 取已测定的千斤拔(含染料木素 0.106 7 mg/g、染料木苷 0.132 7 mg/g)药材粉末 6 份,各 1 g,精密称定,精密加入 1 mL 染料木素对照品 0.105 0 mg/mL、1 mL 染料木苷 0.130 0 mg/mL,配制方法见 2.1.1 项,得供试品样液,微孔滤膜滤过,进样 10 μL,测定峰面积,计算加样回收率,结果:染料木素的平均回收率为 97.30% (RSD = 1.80% $n = 6$)、染料木苷的平均回收率为 94.85% (RSD = 1.85% $n = 6$)。结果如表 2、3。

表 2 千斤拔药材染料木素的加样回收率结果

样号	加入量 /μg	原有量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1	0.105 0	0.106 9	0.211 3	99.43		
2	0.105 0	0.107 1	0.209 0	97.05		
3	0.105 0	0.107 3	0.210 6	98.38	97.30	1.80
4	0.105 0	0.107 5	0.206 5	94.29		
5	0.105 0	0.107 1	0.209 8	97.81		
6	0.105 0	0.106 8	0.208 5	96.86		

表 3 千斤拔药材染料木苷的加样回收率结果

样号	加入量 /μg	原有量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
1	0.130 0	0.133 0	0.255 3	94.08		
2	0.130 0	0.133 2	0.253 3	92.58		
3	0.130 0	0.133 4	0.256 7	94.85	94.85	1.85
4	0.130 0	0.133 7	0.258 9	96.31		
5	0.130 0	0.133 1	0.255 5	94.15		
6	0.130 0	0.132 9	0.259 4	97.31		

表 4 千斤拔药材中染料木素和染料木苷的含有量

样品 编号	来源	质量分数/(mg/g)					
		染料木素		染料木苷		RSD	
		平均 值	RSD /%	平均 值	RSD /%	平均 值	RSD /%
1	广西荔浦城郊	0.031 6	0.032 0	1.18	0.079 0	0.079 1	0.70
		0.032 2			0.078 6		
		0.032 3			0.079 7		
2	广西荔浦青山	0.030 4	0.030 5	1.36	0.111 8	0.112 3	0.37
		0.030 2			0.112 6		
		0.031 0			0.112 4		
3	广西昭平市场	0.048 4	0.048 6	0.78	0.130 4	0.130 9	0.73
		0.049 0			0.130 3		
		0.048 3			0.132 0		
4	广西南丹路生	0.139 5	0.139 9	0.26	0.171 9	0.172 3	0.56
		0.140 0			0.171 6		
		0.140 2			0.173 4		
5	广西昭平城郊	0.030 8	0.031 1	0.81	0.057 1	0.0573 0	0.35
		0.031 1			0.057 3		
		0.031 3			0.057 5		
6	广西凤山	0.115 8	0.116 4	0.47	0.228 9	0.228 9	0.19
		0.116 7			0.229 0		
		0.116 8			0.229 7		
7	广西凭祥	0.052 1	0.052 4	0.57	0.096 3	0.096 6	0.37
		0.052 4			0.096 5		
		0.052 7			0.097 0		
8	广西西林城郊	0.024 1	0.024 5	1.18	0.066 9	0.067 0	0.48
		0.024 8			0.067 4		
		0.024 3			0.066 8		
9	广西富川	0.048 7	0.048 8	0.63	0.057 6	0.058 9	1.15
		0.049 1			0.058 9		
		0.048 5			0.058 0		
10	广西融安	0.106 7	0.106 8	0.20	0.133 0	0.132 8	0.16
		0.106 6			0.132 6		
		0.107 0			0.132 9		

2.3.8 样品测试 取供试样品,过 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,精密吸取 10 μL 进样,按上述色谱条件

进行测定,外标法计算。结果表明:染料木素质量分数为 0.024 5~0.139 9 mg/g;染料木苷质量分数为 0.058 9~0.228 9 mg/g,见表 4。考虑本品来自于野生资源,产地和采收情况比较复杂,贮藏过程质量的变化,拟定每克药材染料木素不少于 0.02 mg,染料木苷不少于 0.05 mg/g。

3 讨论

千斤拔药材中有效成分检测指标的缺失严重影响其药材质量,建立千斤拔的定性定量的检查方法对于保证千斤拔药材的质量具有重要意义。因此我们建立了千斤拔药材中染料木素和染料木苷的薄层色谱检识方法和高效液相色谱测定方法,并制定其限度,以期科学有效地控制药材的质量,保证其临床疗效。薄层色谱结果表明,10 个不同产地千斤拔药材样品中,均检出染料木苷,斑点清晰且方法简便、快速、可行,故此方法可用作千斤拔药材的定性鉴别。

参考文献:

- [1] 饶伟文,黄建楷,温志芳,等.千斤拔的品种调查与质量研究[J].中草药,1999,30(3):219.
- [2] 戴斌.中国现代瑶药[M].南宁:广西科学技术出版社,2009:85.
- [3] 江西新医学院.中药大辞典:上册[M].上海:上海人民出版社,1977:212.
- [4] 张丽霞,彭建明,马洁.千斤拔研究进展[J].中药材,2007,30(7):887-890.
- [5] 陈元,杨世丁.千斤拔的临床应用[J].中国民族民间医药杂志,2001(6):363.
- [6] 冷方南.中国基本中成药:1部[M].北京:人民卫生出版社,1988:223,307.
- [7] 《广东中药志》编辑委员会.广东中药志:第1卷[M].广州:广东科技出版社,1996:130.
- [8] 陈敏,罗思齐,陈钧鸿.蔓性千斤拔化学成分的研究[J].药学报,1990,26(1):42-48.
- [9] 王小庆,杨树德,杨竹雅.蔓性千斤拔挥发性成分的研究[J].云南中医学院学报,2008,31(6):12-14.
- [10] 李华,杨美华,斯建勇,等.千斤拔化学成分研究[J].中草药,2009,40(4):512-516.
- [11] 李华,杨美华,马小军.千斤拔黄酮类化学成分研究.中国中药杂志,2009,34(6):724-726.
- [12] 陈一,李开双,黄凤娇.千斤拔的镇痛和抗炎作用[J].广西医学,1993,15(2):77-79.
- [13] 袁建新,倪立新,冯凯,等.千斤拔、人参茎叶皂甙对 Wistar 大鼠坐骨神经损伤保护作用的实验研究[J].中国煤炭工业医学杂志,2002,5(4):405.
- [14] 广西壮族自治区卫生厅.广西中药材标准:第二册[S].南宁:广西科技出版社,1996:37-39.
- [15] 杨树德,王小庆,周志宏,等.高效液相色谱法测定千斤拔中染料木苷的含量[J].天然产物研究与开发,2009,21:121-123.