

维药菟丝草的质量标准研究^Δ

毛艳^{1,2*}, 顾政一^{1#}, 杨伟俊¹, 贺金华¹, 王桂玲², 贺俊兰²(1.新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004; 2.石河子大学药学院, 新疆石河子 832002)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1782-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.19

摘要 目的:建立维药菟丝草的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对菟丝草进行定性鉴别;采用高效液相色谱法同时测定菟丝草中金丝桃苷和槲皮素的含量;色谱柱为 Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U C₁₈ 110A(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(18:82, V/V), 检测波长为 360 nm, 柱温为 30 ℃, 流速为 1 ml/min。结果:TLC 鉴别特征明显、分离度好。金丝桃苷和槲皮素的质量浓度分别在 4.50~45.00、1.37~13.70 μg/ml 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系(r 分别为 0.999 7、0.999 8);二者精密度、重复性、稳定性试验的 RSD 均 < 2%;平均加样回收率分别为 102.11% 和 98.66%, RSD 分别为 0.47% 和 1.71%(n 均为 6)。结论:所建标准可用于菟丝草的质量控制。

关键词 菟丝草;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;金丝桃苷;槲皮素

Study on Quality Standard of Uygur Medicine *Cuscuta chinensis*

MAO Yan^{1,2}, GU Zheng-yi¹, YANG Wei-jun¹, HE Jin-hua¹, WANG Gui-ling², HE Jun-lan²(1.Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China; 2. Pharmacy College of Shihezi University, Xinjiang Shihezi 832002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Uygur medicine *Cuscuta chinensis*. METHODS: *C. chinensis* was identified by TLC. The contents of hyperin and quercetin were determined by HPLC. The determination was performed on Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U C₁₈ 110A(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid(18:22, V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 360 nm and the column temperature was 30 ℃. RESULTS: TLC spots were clear and well-separated. The linear range of hyperin and quercetin were 4.50-45.00 μg/ml ($r=0.999 7$) and 1.37-13.70 μg/ml ($r=0.999 8$), respectively. RSDs of precision test, reproducibility test and stability test were all lower than 2%. The average recoveries were 102.11% (RSD=0.47%, $n=6$) and 98.66% (RSD=1.71%, $n=6$). CONCLUSIONS: Established standard can be used for the quality control of *C. chinensis*.

KEY WORDS *Cuscuta chinensis*; Quality standard; TLC; HPLC; Hyperin; Quercetin

菟丝草为旋花科植物菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥地上部分^[1]。本品茎多缠绕成团, 棕黄色, 柔细, 常有圆形或扁球形的果实, 气微, 味苦。其喜生于田边、荒地或灌丛处, 寄主有豆科、菊科、蓼科等多种植物。菟丝草具有清除异常黑胆质或异常黏液质、散气通阻、爽心悦志、清脑安神、软坚消肿之功效, 用于治疗黑胆质性或黏液质性疾、寒性抑郁症、神经症、抽筋、失眠。2010年版《中国药典》(一部)仅收录了菟丝子干燥成熟的种子^[1], 而2010年版《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药材饮片炮制规范》收录的菟丝草为菟丝子 *C. chinensis* Lam. 的干燥地上部分^[2]。迄今为止, 国内、外尚未见有关菟丝草的化学成分和生物活性的研究报道。菟丝草在自然的资源丰富, 为了充分利用该植物资源, 揭示其药用的物质基础, 从中寻找有生物活性及药用前导的天然产物, 本课题组对菟丝草的化学成分、定性鉴别与含量测定方法等方面进行了

研究, 为进一步开发利用该资源提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Bp211D 电子天平(德国 Sartorius 公司); WHF-203B 暗箱式紫外分析仪(上海精科实业有限公司); UV-2501PC 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); 全自动高效液相色谱(HPLC)仪(含紫外检测器、LC-2010C 系统控制器)、CLASS-VP V6.14 SP1 数据工作站(日本 Shimadzu 公司); SK3300H 超声波清洗器(上海申生科技有限公司)。

1.2 试剂

金丝桃苷(批号: 111521-201004, 质量分数: 93.9%)、槲皮素(批号: 100081-200907, 质量分数: 96.5%)对照品均购自中国食品药品检定研究院; 所用试剂均为分析纯。

1.3 药材

菟丝草采自新疆吉木萨尔县, 由新疆维吾尔自治区药物研究所杨伟俊副研究员鉴定为旋花科植物菟丝子 *C. chinensis* Lam. 的干燥地上部分, 自然晾干, 备用。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱(TLC)定性鉴别

取本品粉末(过四号筛)1 g, 加 50% 乙醇溶液 20 ml, 超声

^Δ 基金项目:新疆维吾尔自治区重大科技专项资助(No.201130105-4)

* 助理研究员, 硕士研究生。研究方向: 药物新制剂及新剂型。电话: 0991-2322941。E-mail: maoyan7529@163.com

通信作者: 研究员, 博士研究生导师。研究方向: 药物新制剂及新剂型。电话: 0991-2322941。E-mail: zhengyi@xj.cninfo.net

提取 30 min(功率:250 W,频率:40 kHz),滤过,滤液蒸干,残渣加 10 ml 水使溶解,移入分液漏斗中,加乙醚振摇提取 3 次,每次 10 ml,合并乙醚液,然后加乙酸乙酯振摇提取 3 次,合并乙酸乙酯液,蒸干,加 2 ml 甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取金丝桃苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照 2010 年版《中国药典》(一部)TLC 法^[1]试验,吸取上述溶液各 1 μ l,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲醇-冰醋酸-水(6:1:4, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,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,显相同颜色的荧光斑点。菟丝草的 TLC 见图 1。

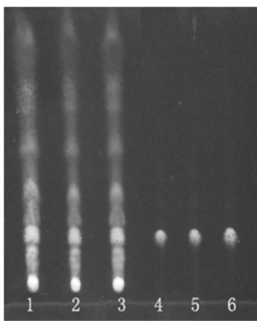


图 1 菟丝草的 TLC 图
1~3.菟丝草药材;4~6.金丝桃苷对照品

Fig 1 TLC of *C. chinensis*

1-3. *C. chinensis* Chinese herbal medicine; 4-6. hyperin control

2.2 金丝桃苷和槲皮素的含量测定^[3]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex-Pack Gemini-NX 5U C₁₈ 110A(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(18:82, V/V);检测波长:360 nm;流速:1 ml/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ l。色谱见图 2。

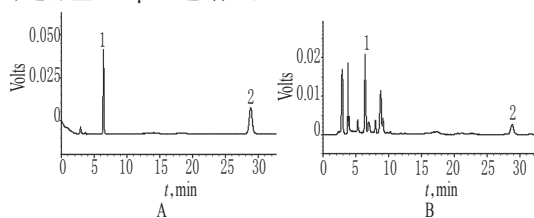


图 2 高效液相色谱图
A.混合对照品;B.供试品;1.金丝桃苷;2.槲皮素

Fig 2 HPLC chromatograms

A. mixed control; B. test sample; 1. hyperin; 2. quercetin

2.2.2 混合对照品贮备液的制备 取金丝桃苷和槲皮素对照品各适量,精密称定,置棕色量瓶中,加甲醇制成每 1 ml 含金丝桃苷 450 μ g、槲皮素 137 μ g 的混合对照品贮备液。10 $^{\circ}$ C 以下贮藏,备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过四号筛)约 1 g,精密称定,分别置具塞锥形瓶中,精密加入 50%乙醇溶液 100 ml,称定质量,超声处理 30 min(功率:250 W,频率:40 kHz),放冷,再称定质量,用 50%乙醇溶液补足失质量,摇匀,备用。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品贮备液 0.1、0.2、0.4、0.6、1.0 ml,分别置 10 ml 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制成系列对照品溶液。分别精密吸取各对照品溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,按“2.2.1”项下色谱条件测定峰面积。以对照品质量浓度(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得金丝桃苷和槲皮素的回归方程分别为 $y=24\ 795x-$

$2\ 923.5(r=0.999\ 7, n=5)$ 和 $y=40\ 031x-11\ 269(r=0.999\ 8, n=5)$ 。结果表明,金丝桃苷和槲皮素的质量浓度分别在 4.50~45.00、1.37~13.70 μ g/ml 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取同一混合对照品溶液适量,按上述色谱条件重复进样 6 次,记录峰面积。结果,金丝桃苷和槲皮素的 RSD 分别为 0.35% 和 0.69%(n 均为 6),表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取同一批样品粉末适量,共 6 份,精密称定,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,每 1 g 样品平均含金丝桃苷 1.78 mg、槲皮素 0.54 mg,二者对应的 RSD 分别为 1.59% 和 1.86%(n 均为 6),表明本方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,室温放置,分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,金丝桃苷和槲皮素的 RSD 分别为 1.18% 和 1.71%(n 均为 7),表明供试品溶液室温放置 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 称取已知含量的样品粉末约 0.5 g,共 6 份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入混合对照品贮备液 2 ml,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

成分	称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
金丝桃苷	0.500 21	0.890	0.900	1.810	102.22	102.11	0.47
	0.500 03	0.890	0.900	1.806	101.78		
	0.500 12	0.890	0.900	1.812	102.44		
	0.500 35	0.891	0.900	1.804	101.44		
	0.500 17	0.890	0.900	1.808	102.00		
槲皮素	0.500 25	0.890	0.900	1.815	102.78	98.66	1.71
	0.500 21	0.270	0.274	0.541	98.91		
	0.500 03	0.270	0.274	0.539	98.18		
	0.500 12	0.270	0.274	0.536	97.08		
	0.500 35	0.270	0.274	0.540	98.54		
0.500 17	0.270	0.274	0.537	97.45			
0.500 25	0.270	0.274	0.549	101.82			

2.2.9 样品含量测定 取菟丝草及其各部位粉末各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品中金丝桃苷和槲皮素的含量,结果见表 2。

表 2 菟丝草不同部位含量测定结果

Tab 2 Results of content determination of different parts of *C. chinensis*

部位	金丝桃苷,mg/g	槲皮素,mg/g
菟丝草	1.78	0.54
菟丝草茎、叶	1.27	0.28
菟丝草种子	2.03	0.56

由表 2 可知,菟丝草中的种子和茎、叶部位均含有金丝桃苷和槲皮素,只是不同部位中 2 种成分的含量高低不同而已。

3 讨论

本课题组进行了菟丝草化学成分预试,结果表明,菟丝草中含有有机酸、酚类、黄酮、萜醌、甾体或三萜类、糖及其苷类等化学成分,其中尤以黄酮类成分最为明显。

TLC 鉴别研究中,样品处理方法考察了直接用不同质量分数的乙醇进行提取后点样的结果,发现样品斑点过大,可能是总黄酮对其有干扰。后采用醇水提取后蒸干,用水溶解后,先用乙醚自水溶液中萃取游离黄酮,再用乙酸乙酯反复萃取

HS-SPME-GC-MS联用技术分析杭白菊中挥发性化学成分

江汉美*,张锐,卢金清,李雨玲,杨小金,郭彧,杨珊(湖北中医药大学湖北省药用植物研发中心,武汉430065)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1784-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.20

摘要 目的:对杭白菊药材中挥发性物质进行分析。方法:采用顶空固相微萃取技术萃取杭白菊中挥发性成分;利用气相色谱-质谱联用技术对其进行定性分析。色谱柱为HP-5MS(50 m×0.2 mm,0.33 μm),载气为氮气,流速为1 ml/min,进样口温度为250 ℃,采用程序升温和不分流进样;电离方式为电轰击电离,电子能量为70 eV,离子源温度为230 ℃,四级杆温度为150 ℃,接口温度为280 ℃,质量扫描范围(*m/z*)为35~550 amu;以峰面积归一化法计算各组分的质量分数。结果:共分离出68个峰,确认了其中47个化合物,占挥发油总量的87.11%,其中含量较高的成分有樟脑(10.86%)、菊油环酮(9.03%)、5-(1,1-二甲基乙基)-环戊二烯(8.52%)、 α -蒎烯(7.51%)等。结论:试验结果可为杭白菊的进一步研发和综合利用提供科学依据。

关键词 杭白菊;顶空固相微萃取技术;气相色谱-质谱联用技术;挥发性成分

Analysis of Volatile Chemical Components of *Dendranthema morifolium* by HS-SPME-GC-MS

JIANG Han-mei, ZHANG Rui, LU Jin-qing, LI Yu-ling, YANG Xiao-jin, GUO Yu, YANG Shan (Hubei Medicinal Plants R&D Center, Hubei University of TCM, Wuhan 430065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the volatile components from *Dendranthema morifolium*. METHODS: The volatile components was extracted by headspace solid phase micro-extraction (HS-SPME) and qualitatively analyzed by GC-MS. HP-5MS(50 m×0.2 mm,0.33 μm) column was used with nitrogen as carrier gas at the flow rate of 1 ml/min. Injector temperature was at 250 ℃ through processing temperature rising using splitless inlet; Mass spectrometer conditions were: ionization mode: EI, electron energy 70 eV, ion source temperature: 230 ℃, quadropole temperature: 150 ℃, interface temperature: 280 ℃, mass scan range: 35-550 amu. The relative contents of each component were calculated with peak area normalization method. RESULTS: A total of 68 peaks were separated and 47 compounds were identified, which accounted for 87.11% of essential oil. The high content of components was as follows: camphor (10.86%), chrysanthenone (9.03%), 5-(1,1-dimethylethyl)-1,3-cyclopentadiene (8.52%) and α -pinene (7.51%), etc. CONCLUSIONS: The study can provide scientific reference for further R&D and comprehensive utilization of *D. morifolium*.

KEY WORDS *Dendranthema morifolium*; Headspace solid phase micro-extraction; GC-MS; Volatile components

得到金丝桃苷,所得图谱中斑点清晰、无干扰。

本课题组考察了菟丝草全草中化学成分的含量,采用HPLC法测定了菟丝草中金丝桃苷、芦丁、木犀草素、木犀草苷、槲皮素、山柰酚、肉桂酸和咖啡酸等成分的含量,其中芦丁、木犀草素、木犀草苷、槲皮素、山柰酚、肉桂酸和咖啡酸^[4-6]的含量均较低。

对于菟丝草,中药材研究中多以其成熟的种子入药[2010年版《中国药典》(一部)中所载菟丝子药材即为菟丝草的干燥成熟种子],而在维药经典名方中,多采用菟丝草全草(含茎、叶)入药。金丝桃苷和槲皮素是菟丝草的主要有效成分之一。本研究结果表明,菟丝草的茎、叶及种子中均富含金丝桃苷和槲皮素,且不同部位含有的黄酮类成分较相似(如:木犀草苷、山柰酚和芦丁等)。菟丝草在新疆资源丰富,其富含的黄酮类成分将在药品、食品领域拥有广泛的应用价值和前景。本研究所建标准可用于菟丝草的质量控制,并将为今后不同采收期、不同产地、不同批次菟丝草药材的深入研究打

下基础。

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年版.北京:中国医药科技出版社,2010:290-291、附录34.
- [2] 新疆维吾尔自治区食品药品监督管理局.新疆维吾尔自治区中药维吾尔药材饮片炮制规范:第一册[S].2010年版.乌鲁木齐:新疆人民卫生出版社,2010:91.
- [3] 林慧彬,林建群,路宁,等.菟丝子及南方菟丝子的质量控制研究[J].中药材,2007,11(30):1446.
- [4] 张彦福.维吾尔药材真伪鉴别[M].乌鲁木齐:新疆美术摄影出版社,2007:269-275.
- [5] He XH, Yang WZ, Meng AH, Two new lignan glycosides from the seeds of *Cuscuta chinensis*[J]. *J Asian Nat Prod Res*,2010,12(11):934.
- [6] 李忠思,于海龙,刘振华,等.杞棍颗粒的质量标准研究[J].中国药房,2012,23(27):3175.

(收稿日期:2012-10-08 修回日期:2012-11-14)

*教授,硕士研究生导师。研究方向:中药及其制剂的有效成分。E-mail:jianghm-666@163.com