

祖师麻不同部位中香豆素类成分的含量比较

张超,王京龙,林桂涛*
(山东中医药大学药学院,济南 250355)

[摘要] 目的:研究祖师麻不同部位的香豆素类成分分布。方法:采用 HPLC 测定不同部位中祖师麻甲素和伞形花内酯的含量,色谱条件:Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸溶液(15:85),检测波长 326 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹;采用 UV 测定不同部位中总香豆素的含量。结果:根皮和老茎皮中祖师麻甲素含量较高,叶中伞形花内酯含量最高,皮部祖师麻甲素和伞形花内酯的含量均高于芯部,总香豆素主要分布在皮部和叶部,其含量是芯部的 4~7 倍。结论:祖师麻的根皮和老茎皮既是质量较优的部位,又是采收时容易分离获取的部位,祖师麻叶部的药用开发需更深入研究。

[关键词] 祖师麻; 祖师麻甲素; 伞形花内酯; 总香豆素; 不同部位

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)16-0105-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160105

Comparison of Content of Coumarins from Different Fractions in Cortex Daphnes

ZHANG Chao, WANG Jing-long, LIN Gui-tao*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** This study aimed at investigating the distribution of coumarins in the different parts of Cortex Daphnes. **Method:** The contents of daphnetin and skimmetin in the different parts of Cortex Daphnes were determined by HPLC. The contents of total coumarins in the different parts of Cortex Daphnes were determined by UV. **Result:** The content of daphnetin in root bark and stem bark was higher than other parts. The content of skimmetin in leaf was the highest. Both daphnetin and skimmetin in bark had higher content than in

[收稿日期] 20130829(002)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09401-302-4-12);济南市高校院所自主创新科技计划项目(201102017)

[第一作者] 张超,博士,副教授,从事中药新制剂新技术和中药炮制研究,Tel:0531-89628590,E-mail:zhangchaotcm@126.com

[通讯作者] *林桂涛,教授,从事中药新制剂与制药新技术研究,Tel:0531-89628590,E-mail:linguitao@tom.com

- [8] 米热古丽·伊马木,余雄,阿依古丽,等. 三种植物精油抑菌效果的研究[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(6):1044.
- [9] 王伟江. 天然活性单萜——柠檬烯的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2005, (1):33.
- [10] 鲁长海,白卫东. 植物精油生理功能的研究进展[J]. 中国调味品, 2012, 3(37):36.
- [11] 吴宇峰,李利荣,时庭锐,等. 香薰植物精油主要成分的气相色谱/质谱分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(1):77.
- [12] 陈康健,王茹之. GC-MS 分析丹参不同部位中的挥发性成分[J]. 陕西师范大学学报, 2011, 39(1):70.
- [13] 张静,冯岗,袁旭超,等. 百里香酚抑菌活性初探[J]. 中国农学通报, 2009, 25(21):277.
- [14] 刘静,徐江涛. 薰衣草精油对小鼠镇静催眠作用的实验研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2012, 11(8):1440.
- [15] Rho K H, Han S H, Kim K S, et al. Effects of aromatherapy massage on anxiety and self-esteem in Korean elderly women: A pilot study[J]. Int J Neuro Sci, 2006, 116(6):1447.
- [16] 李家霞,刘云峰,李光武,等. 吸入不同浓度薰衣草精油对高血压患者血压的影响[J]. 安徽医药, 2011, 15(11):1418.

[责任编辑 邹晓翠]

elder pith. The total coumarins were mainly distributed in bark and leaf, whose content is 4-7 times that of the elder pith. **Conclusion:** The root bark and stem bark in Cortex Daphnes are not only the medicinal parts in higher quality, but also the parts which are easy to peel and obtain. The leaf of Cortex Daphnes can be developed and utilized in medicine by further research.

[**Key words**] Cortex Daphnes; daphnetin; skimmetin; total coumarin; different fraction

祖师麻为瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche、陕甘瑞香 *D. tangutica* Maxim. 或凹叶瑞香 *D. retusa* Hemsl. 的干燥茎皮及根皮,收载于 1977 年版《中国药典》一部,具有祛风湿,活血止痛的作用,临床常用于防治风湿痹痛,关节炎,类风湿性关节炎。祖师麻的主要成分^[1-2]为香豆素类,其中祖师麻甲素含量较高。研究表明祖师麻甲素可明显减轻热板法、电刺激法、醋酸扭体法和热水刺激法致小鼠疼痛^[3-5],对由大鼠蛋清和右旋糖酐所致两种急性实验性关节炎均有显著抑制作用,略强于等剂量的水杨酸钠^[3]。目前,市售有关制剂如祖师麻片^[6]、祖师麻膏药^[7]、祖师麻注射液^[8-9]等亦均以祖师麻甲素作为质量控制指标。随着祖师麻相关研究的不断深入,对该药材的需求日益增长,为了充分利用祖师麻药用资源,合理采集药用部位,保证药材质量,本研究以祖师麻甲素、伞形花内酯和总香豆素为指标研究了香豆素类成分在祖师麻不同部位中的分布。

1 材料

1100 Series 型高效液相色谱仪:G1312A 二元泵、G1315B 紫外检测器、G1316A 柱温箱(美国安捷伦科技公司),TU-1901 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),KQ-250E 型医用超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司),MS105DU 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。甲醇(色谱纯,天津市四友化学有限公司),乙腈(色谱纯,美国 J. T. Baker 公司),其余试剂均为分析纯。祖师麻甲素和伞形花内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110900-200405,111739-200501,供含量测定用)。祖师麻样品采自甘肃省陇南市康县(采集时间为 2013 年 5 月下旬),经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为瑞香科植物黄瑞香 *D. giraldii* Nitsche。

2 方法与结果

2.1 不同部位样品的制备 祖师麻全植株采集后,按照产地处理方式干燥,取干燥全植株分离制备根皮、根芯、老茎皮、老茎芯、嫩茎皮、嫩茎芯和叶等 7 个部位,每个部位均取 100 g 分别粉碎,使通过二号筛,以备测定含量和水分。

2.2 对照品溶液制备 分别精密称取祖师麻甲素对照品 1.36 mg,伞形花内酯对照品 1.22 mg,置 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 取祖师麻不同部位各 0.25 g,精密称定,分别置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 祖师麻甲素和伞形花内酯的含量测定 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸溶液(15:85),检测波长 326 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。祖师麻甲素和伞形花内酯分离度良好,无其他杂质干扰,见图 1。

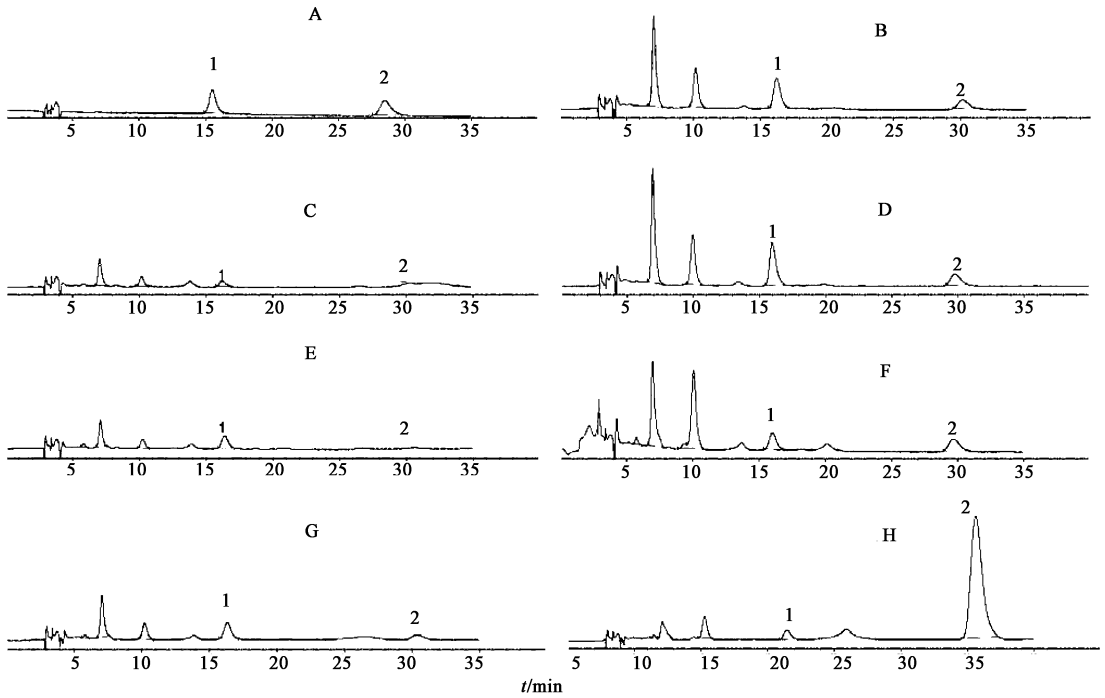
线性关系考察:分别精密量取 2.2 项下混合对照品溶液 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。各吸取 20 μL 进样测定,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。结果祖师麻甲素对照品在 0.544 ~ 27.20 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系($Y = 78.991X + 0.757, r = 0.9996$);伞形花内酯对照品在 0.488 ~ 24.40 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系($Y = 78.729X + 0.841, r = 0.9998$)。

回收率试验:取已知含量的根皮(祖师麻甲素质量分数为 1.127 mg·g⁻¹,伞形花内酯质量分数为 0.567 mg·g⁻¹,未按干燥品计)约 0.12 g,精密称定,共 5 份,加入适量的祖师麻甲素和伞形花内酯对照品,按确定方法测定,结果见表 1,2。祖师麻甲素和伞形花内酯的含量测定经方法学考察符合测定的要求。

表 1 祖师麻甲素回收率

| 取样量 /g | 样品中量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|-----------|-------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 0.127 3 | 0.143 5 | 0.285 9 | 100.28 | | |
| 0.134 0 | 0.151 0 | 0.291 2 | 98.73 | | |
| 0.119 5 | 0.134 7 | 0.273 5 | 97.75 | 99.03 | 0.93 |
| 0.1261 | 0.142 1 | 0.282 7 | 99.01 | | |
| 0.123 8 | 0.139 5 | 0.280 6 | 99.37 | | |

注:加入量均为 0.142 mg。



1. 祖师麻甲素;2. 伞形花内酯;A. 对照品;B. 根皮;C. 根芯;D. 老茎皮;E. 老茎芯;F. 嫩茎皮;G. 嫩茎芯;H. 叶

图1 祖师麻甲素和伞形花内酯对照品及祖师麻不同部位 HPLC

表2 伞形花内酯回收率

| 取样量 /g | 样品中量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|-----------|-------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 0.1273 | 0.0722 | 0.1462 | 102.78 | | |
| 0.1340 | 0.0760 | 0.1491 | 101.53 | | |
| 0.1195 | 0.0678 | 0.1380 | 97.50 | 99.61 | 2.39 |
| 0.1261 | 0.0715 | 0.1421 | 98.06 | | |
| 0.1238 | 0.0702 | 0.1409 | 98.19 | | |

注:加入量均为0.072 mg。

2.5 祖师麻总香豆素的含量测定 检测波长的选择:取2.2项下混合对照品溶液和2.3项下供试品溶液进行紫外光谱扫描(200~400 nm),结果表明,两者均在326 nm处有较强吸收,故确定祖师麻总香豆素的检测波长为326 nm。

线性关系考察:精密称取祖师麻甲素对照品0.82 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密量取祖师麻甲素对照品溶液0.1,0.2,0.4,0.8,1.6 mL,置5 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。取各对照品溶液于326 nm处测定吸光度。以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。结果祖师麻甲素对照品在1.64~26.24 mg·L⁻¹有良好的线性关系($Y =$

$0.077X - 0.015, r = 0.9997$)。

总香豆素含量以祖师麻甲素对照品的量计,其测定的精密度、回收率等方法学考察均符合UV含量测定的要求。

2.6 样品的含量测定 分别取祖师麻不同部位样品0.25 g各3份,精密称定,按2.3项下供试品溶液制备方法及2.4和2.5项下测定条件,依法测定,计算各样品中祖师麻甲素、伞形花内酯和总香豆素含量(以干燥品计)。结果见表3。

3 讨论

3.1 茎皮、根皮入药合理性的探讨 从表1可以看出祖师麻甲素主要分布于根皮和老茎皮中,嫩茎皮、嫩茎芯和叶中也有一定分布,但含量明显低于根皮和老茎皮;伞形花内酯主要分布于叶部,皮部和芯部中也有一定分布,叶部含量是皮部含量的10倍以上,而芯部含量又远低于皮部;祖师麻甲素和伞形花内酯的含量分布呈以下趋势:根皮>根芯,老茎皮>老茎芯,嫩茎皮>嫩茎芯,嫩茎芯>老茎芯>根芯,随着皮部老化程度增加,含量增加,而芯部则随老化程度增加,含量降低。总香豆素主要分布在皮部和叶部,其含量是芯部的4~7倍。根皮、老茎皮、嫩茎皮、叶部祖师麻甲素与伞形花内酯比值分别为:1.987,2.106,0.841,0.046,其中根皮与老茎皮的比

表 3 祖师麻甲素、伞形花内酯和总香豆素含量测定 (n=3)

| 样品 | 水分/% | 祖师麻甲素 | | 伞形花内酯 | | 总香豆素 | |
|-----|-------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|
| | | 质量分数/mg·g ⁻¹ | RSD/% | 质量分数/mg·g ⁻¹ | RSD/% | 质量分数/mg·g ⁻¹ | RSD/% |
| 根皮 | 10.58 | 1.260 | 1.89 | 0.634 | 1.17 | 3.754 | 1.50 |
| 根芯 | 9.11 | 0.195 | 1.14 | 0.025 | 1.32 | 0.601 | 1.36 |
| 老茎皮 | 10.05 | 1.525 | 1.32 | 0.724 | 1.96 | 3.622 | 1.88 |
| 老茎芯 | 9.50 | 0.261 | 1.07 | 0.093 | 1.22 | 0.547 | 1.25 |
| 嫩茎皮 | 9.78 | 0.699 | 1.65 | 0.831 | 1.73 | 3.603 | 1.65 |
| 嫩茎芯 | 9.45 | 0.678 | 1.72 | 0.320 | 1.55 | 0.834 | 1.58 |
| 叶 | 11.09 | 0.422 | 1.98 | 9.200 | 1.13 | 3.701 | 1.73 |

值较接近。虽然各皮部与叶部的总香豆素含量无显著差异,但其祖师麻甲素与伞形花内酯含量比值却有显著差异。实验操作时祖师麻根和老茎的皮、芯分离较容易,尤其是产地采收后趁鲜剥皮更容易,而嫩茎的皮与芯即使趁鲜分离也较困难。可见,祖师麻的根皮和老茎皮既是质量较优的部位,又是采收时容易分离获取的部位。本研究证实了 1977 年版《中国药典》一部规定黄瑞香药用干燥茎皮及根皮的合理性,同时符合传统以条宽长、皮厚者为佳的入药习惯。

3.2 叶部的药用开发 有报道^[10]拟对祖师麻的可再生部位叶进行开发利用,本研究发现叶部香豆素类成分中伞形花内酯含量最高,叶部色谱图(图 1)与根皮、老茎皮差异显著,能否替代皮部药用值得商榷。本实验所用祖师麻全株以产地习用日晒夜露方式干燥,叶片呈暗褐色,作者同时将鲜叶置阴凉处风干,叶片呈绿色,祖师麻甲素、伞形花内酯和总香豆素质量分数分别为 1.883,4.470,7.740 mg·g⁻¹,与表 1 叶部结果有显著差异,推测叶部所含成分易受采收季节、干燥方式等因素影响。建议祖师麻叶部的开发利用应先从成分、药效、毒性等多学科角度确定其采收季节和时间、干燥方式、贮存条件等。

3.3 祖师麻药用资源展望 祖师麻多生长于山区坡地,对当地水土保持及生态环境有一定保护作用,其药材用量加大势必造成野生资源和当地自然生态环境的破坏。当前,亟需推进祖师麻药材品种从利用野生资源为主,向人工培植资源为主转变。甘肃

省野生祖师麻种子繁育技术已成功,为实现人工种植奠定了基础。祖师麻良种繁育体系和种植规范化、规模化生产基地建设,都将为祖师麻药用资源提供强有力的保障。

[参考文献]

[1] 王明时,于明,张元君. 祖师麻化学成分的研究[J]. 中草药通讯,1976,7(10):13.
 [2] 王明时,玛莱娜·戈加泽. 祖师麻化学成分的研究. 第二报[J]. 中草药,1980,11(2):49.
 [3] 刘国卿,王秋娟,杨思新,等. 祖师麻甲素的药理研究[J]. 中草药通讯,1977,8(3):21.
 [4] 姜秀莲,曲淑岩,潘光,等. 瑞香素对中枢神经系统的抑制作用[J]. 中药通报,1986,11(3):封二.
 [5] 张文亮,李荣亨. 瑞香素药理作用研究现状[J]. 实用中医药杂志,2007,23(6):402.
 [6] 王晓云,邸立杰,刘静洁. HPLC 法测定祖师麻片中祖师麻甲素的含量[J]. 中国药事,2003,17(4):232.
 [7] 张晓萍,丁永辉,李玲莉,等. HPLC 法测定祖师麻膏药中祖师麻甲素和紫丁香苷[J]. 中成药,2011,33(10):1727.
 [8] 周颖,庞兴寿. 祖师麻注射液中紫丁香苷和祖师麻甲素的含量测定[J]. 中国药业,2010,19(4):25.
 [9] 周颖,庞兴寿. 祖师麻注射液指纹图谱的建立及质量相关性研究[J]. 中国药事,2010,24(3):289.
 [10] 王鹏,刘金平,詹妮,等. 祖师麻叶化学成分的研究[J]. 特产研究,2011,33(2):34.

[责任编辑 邹晓翠]