

## 蜜麸炒僵蚕的质量标准研究

赵清<sup>1,2</sup>, 秦桂芳<sup>2</sup>, 桂雪虹<sup>2</sup>, 梁宪茂<sup>2</sup>, 贾天柱<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 河北大学中医学院, 河北 保定 071000)

**[摘要]** **目的:**建立蜜麸炒僵蚕的质量标准。**方法:**按照中国药典规定的相应方法进行显微鉴别、水分测定、灰分测定、浸出物测定和含量测定研究,以 CIE-LAB 色度值为指标,采用色彩色差计测量僵蚕炮制前后颜色的变化,薄层鉴别在已有方法基础之上适当改进,效果良好。**结果:**研究表明,僵蚕炮制前后显微鉴别特征变化不大。炮制后水分含量约为 6.0%,总灰分含量均值为 5.4%,酸不溶性灰分含量为 0.12%,水溶性浸出物含量均值为 21.4%,醇溶性浸出物含量为 13.44%。薄层鉴别显示炮制品和生品甲醇提取物没有太大差别,但色彩差别较明显,蜜麸炒僵蚕的总色度值均值为 47.269,而生品僵蚕的总色度值的均值为 60.595。以  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  值为指标,蜜麸炒僵蚕的  $L^*$  值的数值范围为  $45.984 \pm 3.998$ ,  $a^*$  值的数值范围为  $8.315 \pm 2.149$ ,  $b^*$  的数值范围为  $8.949 \pm 3.322$ 。蜜麸炒僵蚕中指标性成分草酸铵的含量初步定为不低于 4.0%。**结论:**除色差鉴别外,本质量标准的各项要求及结果均在中国药典规定的生品僵蚕质量标准范围内,因此可作为蜜麸炒僵蚕质量标准研究的参考。

**[关键词]** 僵蚕; 炮制; 蜜麸炒; 质量标准。

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0120-06

**[doi]** 10.11653/syfyj2013080120

## Quality Standard of Honey Bran Fried Bombyx Batryticatus

ZHAO Qing<sup>1,2</sup>, QIN Gui-fang<sup>2</sup>, GUI Xue-hong<sup>2</sup>, LIANG Xian-mao<sup>2</sup>, JIA Tian-zhu<sup>1\*</sup>

(1. Pharmacy College of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Traditional Chinese Medicine College of Hebei University, Baoding 071000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality standard of honey bran fried Bombyx Batryticatus. **Method:** According to the provisions of the Chinese pharmacopoeia methods for microscopic identification, the moisture content, ash content, extract and content were determined. Adopted the chroma difference meter to measure chroma changes before and after processed by using the CIE-LAB chroma value as indicators. The TLC identification was improved based on reference methods and the effects were good. **Result:** The research results showed that the processed products and raw products had the same microscopic characteristics, and the moisture content was about 6.0%, the total ash content mean was 5.4%, the acid insoluble ash content was 0.12%, water-soluble extract content mean was 21.4%, alcohol-soluble extract content was 13.44%. The thin layer identify showed that the methanol extracts of processed products and raw products were almost not different from each other. But the color difference was quite evident. The processed products' total chrominance mean value was 47.269, and the raw products' total product color value of the mean was 60.595. In  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  value as indicators, the honey bran fried products from the numerical value of the  $L^*$  range of  $45.984 \pm 3.998$ ,  $a^*$  value is in the range of  $8.315 \pm 2.149$ ,  $b^*$  value was  $8.949 \pm 3.322$ . The content of ammonium oxalate in honey bran fried Bombyx Batryticatus should not be less than 4.0%. **Conclusion:** This quality standards and regulations are both in the

**[收稿日期]** 20120908(006)

**[基金项目]** 河北省中医药管理局项目(2009012)

**[第一作者]** 赵清, 讲师, 博士生, 从事中药炮制学教学与科研工作, Tel: 18031217099, E-mail: wshxr2003@163.com

**[通讯作者]** \* 贾天柱, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片炮制工艺与炮制机制研究, E-mail: jiatianzhu51@yahoo.com.cn

range of the product quality standard of *Bombyx Batryticatus* in China pharmacopoeia except of the color identification. So it can be used as a honey stir frying with bran quality standard of reference.

[Key words] *Bombyx Batryticatus*; processed technology; honey-bran fried; quality standards

僵蚕息风止痉、化痰散结之力较强,临床应用范围广泛<sup>[1]</sup>,疗效确切。僵蚕炮制入药的历史极为久远,炮制方法也多种多样,如历史上曾有米泔浸、焙干、微炒、炒黄、麸炒、姜炙等。炮制不仅能改变中药饮片的外观性状,还能改变药物所含化学成分的类别及含量<sup>[2]</sup>,进而影响到其药理作用和临床疗效。目前,对僵蚕的炮制多采用麸炒法,但有时为了使药物气味良好、色泽艳丽以解决病人服用不快的问题,还采用糖麸炒、蜜麸炒<sup>[3]</sup>等对其炮制。本研究根据“相喜为制”的传统炮制理论,在已确立僵蚕蜜麸炒炮制工艺的基础之上<sup>[4]</sup>,结合前期的研究工作<sup>[5-6]</sup>,制定蜜麸炒僵蚕的质量标准,为僵蚕饮片炮制规范化提供科学依据。

## 1 仪器与试药

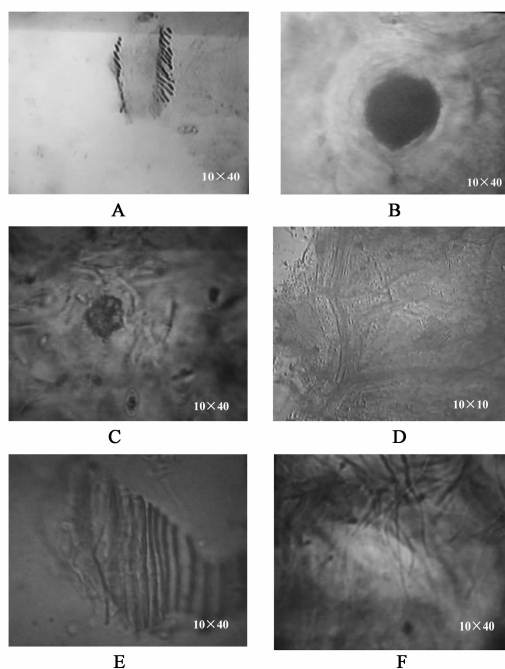
生物光学显微镜(上海光学仪器六厂),WSC-S 色彩色差计(上海精密科学仪器厂),BT 型电子分析天平(赛多利斯),循环水真空泵(郑州巩义)。

蜂蜜(汪氏蜜蜂园专营)、高锰酸钾、草酸铵、无水氯化钙、水合氯醛、甲苯、硝酸银、浓盐酸、硅胶 G、CMC-Na、碘、甲醇、氯仿、丙酮、石油醚、苯、95%乙醇、浓硫酸、浓氨水均为分析醇(天津科密欧)。僵蚕购于河北昌达中药饮片厂(20120322),经我院中药鉴定教研室主任崔桂华教授鉴定系蚕蛾科昆虫家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 4~5 龄的幼虫感染(或人工接种)白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillant 而致死的干燥体。蜜麸炒僵蚕为本实验室自制,制备方法为:取 9.0 g 炼蜜,加入 21 mL 开水,搅匀,与事先称好的 30.0 g 麦麸拌匀,不断搅拌至手握成团,轻拍即散。将铁锅烧热至 180 ℃,均匀撒入蜜水拌好的麦麸,开始计时。待热锅内起烟时加入 300 g 净僵蚕,快速翻炒。6 min 时,快速熄火筛去麦麸,放凉。规格:蜜麸制僵蚕形如僵蚕,表面金黄色,偶有焦黄斑,腥气几乎没有,具甜香味。同法操作两次,共制备 3 份蜜麸制品。

## 2 方法与结果

**2.1 显微鉴别**<sup>[7]</sup> 取僵蚕生品和炮制品适量,干燥、粉碎,过 80 目筛,用稀甘油、水合氯醛等进行粉末制片,在生物光学显微镜下观察。显微鉴别结果见图 1。

**2.1.1 气管** 气管壁碎片略弯曲或呈弧状,具棕色



A. 气管壁;B. 钟乳体;C. 草酸钙簇晶;  
D. 导管;E. 气管壁横纹肌;F. 菌丝

图 1 僵蚕生品炮制品显微鉴别

或深棕色的螺旋丝。

**2.1.2 钟乳体** 未消化桑叶组织可见含钟乳体表皮细胞。

**2.1.3 导管与簇晶** 未消化的桑叶组织中大多含导管和草酸钙方晶或簇晶。

**2.1.4 气管壁横纹肌** 昆虫体内的呼吸道,具螺旋状丝内壁且富弹性。

**2.1.5 菌丝** 菌丝体近无色,细长卷曲缠结在体壁中。

**2.2 色差鉴别** 采用色差计对僵蚕生品和蜜麸炒品进行色差鉴别。色彩条件:光源 D65,标准观察角度 10°,照明几何条件 o/d,照射试样面积  $\Phi 20$  m<sup>2</sup>,仪器误差  $\Delta E^*_{ab} < 0.167$ ,稳定性  $\Delta Y < 0.6$ ,以颜色空间  $L^*, a^*, b^*$  进行色泽量化。样本数据采集:打开色差计,校零,设置参数,白平衡,预热 30 min 后再校定,白平衡,两次工作白板的  $L^*, a^*, b^*$  值均为 92.07, -0.62, 0.65。尔后,将待测饮片置于样品杯中,放入黑色陷阱里。调低测试头,进行测量。每个样品测试 3 次取平均值,记录  $L^*, a^*, b^*$  值。

色泽数据分析:应用 SPSS 16.0 软件进行数据分析,主要采用探索性分析进行多元正态性检验和方差齐性检验。由于数据不满足多元正态性分布和方差齐性,故数据处理选择秩和检验。将样品数据分为生品和蜜麸炒品 2 组, Kruskal-Wallis  $H$  中  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  的  $X^2$  分别为 78.448, 73.561, 0.612,  $P_a$  与  $P_L$  均为 0.000, 而  $P_b = 0.434$ , 故拒绝  $H_0$ , 接受  $H_1$ , 可认为生品与蜜麸炒品外观颜色不完全相同。为探求引起颜色差别的主要因素, 再进行组间两两比较, 采用完全随机设计的  $t$  检验, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计结果见表 1。

表 1 僵蚕生品与蜜麸炒品色度  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  值色差鉴别

组别	$n$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
生品	55	58.120 ± 2.042	3.646 ± 1.087	9.211 ± 2.053
蜜麸炒品	52	45.984 ± 3.998	8.315 ± 2.149	8.949 ± 3.322
$t$		19.605	-14.060	0.487
$P$		0.000	0.000	0.628

2.3 水分测定<sup>[8]</sup> 按照《中国药典》(2010 年版)附录中关于水分含量测定的甲苯法测定蜜麸炒僵蚕的水分含量。结果见表 2。

表 2 蜜麸炒僵蚕中水分测定

样品	样品质量/g	水分体积/mL	水分含量/%
蜜麸炒品 1	2.000 7	0.12	6.00
蜜麸炒品 2	2.018 2	0.12	6.44
蜜麸炒品 3	2.022 4	0.13	6.43

注:水分含量 = (水分体积 × 水密度 / 样品质量) × 100%

2.4 灰分测定<sup>[8]</sup> 按照《中国药典》(2010 年版)附录中关于灰分含量测定的方法测定蜜麸炒僵蚕总灰分含量和酸不溶性灰分含量。实验结果分别见表 3, 4。

2.5 浸出物测定<sup>[8]</sup> 按照《中国药典》(2010 年版)中关于浸出物含量测定的方法测定蜜麸炒僵蚕的水溶性浸出物含量和醇溶性浸出物含量。测定结果分别见表 5, 6。

表 3 蜜麸炒僵蚕总灰分含量测定

No.	样品质量 /g	已恒重坩埚质量 /g	灰分和坩埚质量 /g	灰分和坩埚质量 /g	灰分和坩埚质量 /g	总灰分质量 /g	灰分含量 /%
1	3.999 6	82.515 7	82.733 5	82.733 1	82.733 1	0.217 4	5.44
2	3.999 3	89.446 3	89.660 9	89.660 2	89.660 2	0.213 9	5.35
3	4.000 7	91.232 8	91.449 7	91.449 2	91.449 2	0.216 4	5.41

表 4 蜜麸炒僵蚕酸不溶性灰分含量测定

No.	样品质量 /g	已恒重的坩埚质量/g	酸不溶性灰分和坩埚质量/g	酸不溶性灰分和坩埚质量/g	酸不溶性灰分和坩埚质量/g	酸不溶性灰分质量/g	酸不溶性灰分含量/%
1	3.999 6	82.515 7	82.522 4	82.520 3	82.520 3	0.004 6	0.12
2	3.999 3	89.446 3	89.453 1	89.450 8	89.450 8	0.004 5	0.11
3	4.000 7	91.232 8	91.240 1	91.238 7	91.238 7	0.004 9	0.12

表 5 蜜麸炒僵蚕中水溶性浸出物含量测定结果

No.	样品质量 /g	已恒重坩埚质量 /g	坩埚和浸出物质量/g	坩埚和浸出物质量/g	坩埚和浸出物质量/g	浸出物质量 /g	含量/%
1	1.999 7	84.424 9	84.847 7	84.846 0	84.846 0	0.421 1	21.06
2	1.993 6	89.242 9	89.661 3	89.660 2	89.660 2	0.417 3	20.93
3	2.003 4	82.085 6	82.534 1	82.532 6	82.532 6	0.447 0	22.31

表 6 蜜麸炒僵蚕中醇溶性浸出物含量测定结果

No.	样品质量 /g	已恒重坩埚质量 /g	坩埚和浸出物质量/g	坩埚和浸出物质量/g	坩埚和浸出物质量/g	浸出物质量 /g	含量/%
1	2.000 6	82.514 7	82.847 9	82.783 6	82.783 6	0.268 9	13.44
2	2.012 9	89.152 0	89.661 3	89.423 1	89.423 1	0.271 1	13.47
3	2.001 0	84.029 3	82.534 1	84.297 4	84.297 4	0.268 1	13.40

## 2.6 薄层鉴别

**2.6.1 色谱条件** 薄层色谱板为本实验室自制。3种展开系统分别为氯仿-甲醇<sup>[9]</sup>,石油醚-丙酮<sup>[10]</sup>以及丙酮-苯-70%乙醇-浓氨水<sup>[11]</sup>系统。

**2.6.2 供试品溶液的制备** 取蜜麸炒僵蚕和生品僵蚕各20 g,粉碎,筛析,直至全部通过16目筛。从2种细粉中分别均匀称取2 g样品,置50 mL具塞三角烧瓶中,加甲醇50 mL,超声提取30 min,滤过,滤液浓缩至2 mL,作为供试品溶液和对照药材溶液。

**2.6.2 点样、展开与显色** 取上述2种药材溶液各20  $\mu\text{L}$ 点于同一薄层板上,分别以氯仿-甲醇(12:1)、丙酮-苯-70%乙醇-浓氨水(5:4:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,在365 nm紫外灯下检视。以石油醚-丙酮(5:5)为展开剂展开,取出,晾干,在碘蒸气中显色。

## 2.7 草酸铵的含量测定<sup>[8]</sup>

**2.7.1 标准品溶液的制备** 取105  $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的草酸铵适量,精密称定,用新沸过的蒸馏水溶解,配制成4.168  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准储备液。

**2.7.2 供试品溶液的制备** 分别精密称取蜜麸炒僵蚕和生品僵蚕细粉各10 g,用8倍量和5倍量水,分别于沸水浴上回流,30 min/次,抽滤,合并滤液,定容至200 mL,备用。

**2.7.3 草酸钙沉淀的溶解与标定** 精密吸取一定体积的供试品溶液于烧杯中,在水浴中加热5 min,于75  $^{\circ}\text{C}$ 下滴加 $\text{CaCl}_2$ 试液(0.25  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )至沉淀完全,抽滤。用氯化钙试液10 mL,润洗2次,蒸馏水10 mL润洗1次,抽干。取出滤纸及上沉淀物质,干燥,然后用1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸溶液将沉淀完全溶解,必要时加热促进其溶解,同时搅拌直到絮状物不再溶解为止,趁热(温度不低于65  $^{\circ}\text{C}$ )用已标定好的高锰酸钾溶液滴定至粉红色,以30 s内不褪色为滴定终点。

**2.7.4 标准曲线的制备** 分别精密吸取储备对照液0,5.0,10.0,15.0,20.0,25.0 mL于25 mL量瓶中,用蒸馏水定容,摇匀。分别精密吸取20 mL标准品溶液,置于烧杯中,按滴定条件测定含量,以标准品的浓度为横坐标,消耗高锰酸钾的体积为纵坐标,进行线性回归得标准曲线方程 $Y = 5.685X - 0.009$ ( $r = 0.9998$ ),线性范围为0.833 6~4.168  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.7.5 精密度试验** 精密称取10.000 7 g蜜麸炒僵蚕细粉(过16目筛),按照样品溶液的制备方法配制成200 mL溶液。精密量取20 mL于烧杯中,按照样品溶液中草酸铵的含量测定方法进行测定。平

行测定5次,每次消耗高锰酸钾溶液的体积数分别为18.5,18.6,18.5,18.5,18.4 mL,草酸铵的质量百分含量分别为5.05%,4.98%,5.05%,4.97%,5.05%,平均含量为5.02%,RSD为0.78%。

**2.7.6 重复性试验** 取蜜麸炒僵蚕细粉适量(过16目筛),精密称取4份,每份的质量数分别为10.000 4,10.011 3,9.999 4,10.002 9 g。按照样品溶液的制备方法配制成200 mL溶液。精密量取20 mL于烧杯中,按照样品溶液中草酸铵的含量测定方法进行测定。每次消耗高锰酸钾溶液的体积数分别为18.7,18.7,18.5,18.6 mL,草酸铵的质量百分含量分别为4.93%,4.91%,5.03%,4.97%,平均含量为4.96%,RSD为0.92%。

**2.7.7 加样回收率实验** 精密称取已知含量为4.97%的样品3份,每份5 g。分别精密加入一定质量的草酸铵,按样品溶液制备方法配制成200 mL溶液。精密量取20 mL于烧杯中,按滴定条件进行测定,并计算草酸铵的平均回收率和RSD。由表7可知平均回收率为97.04%,RSD为1.17%,符合要求,说明实验结果可信。

表7 加样回收率实验测定

样品质量/g	已有草酸铵质量/g	加入草酸铵质量/g	消耗高锰酸钾体积/mL	草酸铵回收量/g	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
4.987 7	0.247 9	0.250 1	13.4	0.471 5	94.68		
4.999 5	0.248 4	0.250 6	13.5	0.480 6	96.31	97.04	1.17
5.000 4	0.248 5	0.249 7	13.6	0.498 8	100.12		

**2.7.8 含量测定** 精密吸取15 mL供试品溶液,注入烧杯中,在恒温水浴中加热至一定程度后立刻(不低于65  $^{\circ}\text{C}$ )趁热用已标定的高锰酸钾溶液滴至粉红色,以30 s内不褪色为滴定终点。读取消耗酸性高锰酸钾溶液的体积数。并计算含量。结果见表8。

表8 僵蚕中草酸铵含量测定

供试品溶液体积/mL	消耗高锰酸钾体积/mL	供试品溶液浓度/g/mL	草酸铵含量/%	平均含量/%
15	14.1	0.124 989	5.00	
15	14.0	0.124 103	4.96	4.96
15	13.9	0.123 216	4.93	

### 3 结论与讨论

#### 3.1 结论

**3.1.1 显微鉴别** 采用蜜麸炒优选工艺炮制的僵蚕显微鉴别结果与中国药典中生品僵蚕的显微鉴别特征基本一致。

**3.1.2 色差鉴别** 采用优选工艺炮制的蜜麸炒僵蚕颜色空间  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  值约为  $45.984 \pm 3.998$ ,  $8.315 \pm 2.149$  和  $8.949 \pm 3.322$ , 与生品僵蚕相比, 蜜麸炒僵蚕的  $L^*$  值 < 生品组, 故亮度较暗, 而  $b^*$  值较为接近无显著差别, 而  $a^*$  值较大, 差异显著, 因此, 蜜麸炒僵蚕较之生品颜色偏红。

**3.1.3 水分测定** 2010 年版《中国药典》中关于僵蚕生品与炮制品的水分含量要求不得超过 13.0%。本实验采用优选工艺炮制后的蜜麸炒僵蚕样品进行水分测定, 含量为 6.0% ~ 6.44%, 结果表明符合药典规定。

**3.1.4 灰分测定** 2010 年版《中国药典》关于僵蚕生品与炮制品的总灰分含量不得过 7.0%, 酸不溶性灰分含量不得过 2.0%。本实验中蜜麸炒僵蚕的总灰分含量为 5.35% ~ 5.44%, 酸不溶性灰分含量为 0.11% ~ 0.12%, 结果表明符合药典标准。

**3.1.5 浸出物测定** 蜜麸炒僵蚕的水溶性浸出物含量为 20.93% ~ 22.31%, 醇溶性浸出物含量范围为 13.37% ~ 13.44%, 可以作为标准。

**3.1.6 薄层鉴别** 僵蚕蜜麸炒品和生品在上述 3 种展开系统中化学成分种类分布差异不大, 但个别斑点的大小和亮度以及颜色的深浅可以反映出含量的细微差异。

**3.1.7 含量测定** 本实验中蜜麸炒僵蚕的含量测定范围为 4.93% ~ 5.00%, 但由于未对全国各个产区的僵蚕进行草酸铵的含量测定, 因此本标准暂且将蜜麸炒僵蚕中草酸铵的含量规定初步定为不低于 4.0%。

综上所述, 除色差鉴别外, 本质量标准的各项要求及结果均在《中国药典》规定的僵蚕质量标准范围内。本研究制定的质量标准对蜜麸炒僵蚕新工艺规范化、标准化起到重要指导作用, 同时可作为控制蜜麸炒僵蚕新型饮片的质量依据。

#### 3.2 讨论

**3.2.1 薄层鉴别方法优选的依据** 丙酮-苯-70%乙醇-浓氨水系统体积比为 5:4:2:1 以及石油醚-丙酮系统体积比为 5:5 时展开效果良好。但方法 3 所用的显色剂为碘蒸气, 对人体有毒害, 显色时间也比较长, 且薄层板经过长时间挥散后依然显色的斑点

多为具有不饱和结构的化合物, 具有一定的局限性。另外, 整个图谱反映出来的信息较之前两种鉴别方法所得信息为少。鉴别方法 1 和方法 2 用时少、效率高, 相对较优。但二者相比, 以后者为佳, 原因是采用方法 2 展开后, 各组分斑点偏圆且集中, 并且本展开系统中的浓氨试剂为碱性, 避免了某些化合物与硅胶这种酸性物质发生分解反应。综合对比后发现, 鉴别方法 2 更适合蜜麸炒僵蚕的薄层鉴别。

**3.2.2 草酸铵提取、定容及沉淀的处理** 草酸铵是僵蚕的病理产物也是重要的活性成分之一, 具有一定的抗惊厥和抗凝血作用<sup>[12-13]</sup>, 含量测定时, 草酸铵的提取尤为重要。但提取过程中, 由于僵蚕细粉溶胀和水提液含有大量的胶体物质, 给抽滤带来极大不便。为解决这个实际问题, 本实验采用了化纤方布包裹样品粉末进行水浴提取, 方法改进后, 抽滤效果明显好转, 提高了工作效率。另外, 为防止提取液抽滤过程中产生大量泡沫以影响定容, 采用水溶性表面活性剂配合搅拌消除泡沫。最后, 溶解草酸钙沉淀时, 虽然加入的酸已经足量, 并且溶解沉淀的温度控制在 75℃ 左右, 但仍然存在少许絮状沉淀, 此絮状沉淀中可能包含其他杂质, 需要做进一步深入探析。

**3.2.3 蜜麸炒制的目的与优势** 僵蚕的药用价值较高, 疗效范围广泛, 但因其生品存在腥臭味道而往往令患者难以接受, 达不到预期的治疗效果, 本实验的研究目的就在此。采用蜜麸炮制出的僵蚕外表颜色金黄, 带有焦香气, 比单纯的麸炒僵蚕更易被患者接受, 达到“相喜为制”的目的, 同时不影响僵蚕中有效成分的药效发挥, 扩大了临床用药范围。

#### [参考文献]

- [1] 米红霞, 刘吉平. 白僵蚕应用研究进展[J]. 广东蚕业, 2010, 44(1): 46.
- [2] 张韬, 李铁林, 江文君, 等. 炮制对僵蚕、鳖甲、穿山甲、阿胶外观性状及内在质量的影响[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(8): 471.
- [3] 张义生, 袁小艳, 徐慧芳. 炮制经验介绍[J]. 中国医药药理学杂志, 2005, 25(9): 881.
- [4] 赵清, 冯静, 崔桂华, 等. 中药僵蚕炮制工艺研究[J]. 医学教育研究与教育, 2011, 28(6): 66.
- [5] 赵清, 徐月清, 冯天铸, 等. 不同炮制方法对僵蚕指标性成分的含量影响研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 657.
- [6] 赵清, 郝丽静, 马晓莉, 等. 六种僵蚕炮制品的薄层鉴别与含量测定研究[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(12): 2421.

# HPLC 同时测定不同产地葛根中 6 种主要异黄酮类成分的含量

王治平<sup>1\*</sup>, 李卫民<sup>2</sup>, 高英<sup>2</sup>, 刘杰<sup>2</sup>

(1. 广东药学院, 广州 510006; 2. 广州中医药大学, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 建立同时测定葛根药材中 6 种主要异黄酮类成分含量的 HPLC 方法。方法: 采用 RP-HPLC 法, Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱; 流动相: 甲醇-0.1% 枸橼酸溶液, 梯度洗脱; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 检测波长 250 nm。结果: 3'-羟基葛根素、葛根素、大豆苷、染料木苷、芒柄花苷、大豆苷元的线性范围分别为 76.2 ~ 1 016, 65.8 ~ 1 316, 85.6 ~ 1 712, 49.98 ~ 499.8, 21.94 ~ 219.4, 48.5 ~ 485 ng, 相关系数 ( $R^2$ ) 均大于 0.999 6, 6 种成分的平均加样回收率分别为 99.73% (RSD 0.6%), 100.48% (RSD 1.11%), 100.37% (RSD 0.79%), 100.28% (RSD 1.07%), 99.96% (RSD 1.22%), 97.36% (RSD 1.59%)。结论: 方法简便快速, 重复性良好, 结果准确可靠, 可用于葛根药材中 6 种主要异黄酮类成分的含量测定。

**[关键词]** 高效液相色谱; 葛根异黄酮; 3'-羟基葛根素; 葛根素; 大豆苷; 染料木苷; 大豆苷元; 芒柄花苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0125-04

**[doi]** 10.11653/syfyj2013080125

## Simultaneous Determination of Six Isoflavonoids in Radix Puerariae Lobatae from Different Habitats by HPLC

WANG Zhi-ping<sup>1\*</sup>, LI Wei-min<sup>2</sup>, GAO Ying<sup>2</sup>, LIU Jie<sup>2</sup>

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;  
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** A reversed-phase high performance liquid chromatographic method (RP-HPLC) was developed for the simultaneous analysis of six isoflavonoids of Gegen, the roots of Puerariae lobatae. **Method:** HPLC determination was performed on a Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and detected at 250 nm. The mobile phase was consisted of methanol and 0.1% citric acid solution with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and column temperature was kept at 30 °C. **Result:** The method was proved to be linear in the ranges of 76.2-1 016, 65.8-1 316, 85.6-1 712, 49.98-499.8, 21.94-219.4, 48.5-485 ng for the six isoflavonoid, 3'-hydroxypuerarin, puerarin, daidzin, genistin, ononin, daidzein, respectively. The average

**[收稿日期]** 20121020(005)

**[通讯作者]** \* 王治平, 博士, 从事中药药效物质、新剂型及质量控制研究, Tel:13570314011, E-mail:wzping\_jshb@126.com

- [7] 刘丽, 曲静, 康廷国. 中风回春丸中五种动物药刚毛的显微鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(12):2964.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [9] 张丽增, 代云桃, 秦雪梅, 等. 僵蚕薄层鉴别方法的改进[J]. 中国药品标准, 2006, 7(4):61.
- [10] 李晓华. 僵蚕质量标准规范化研究[D]. 成都: 成都中医药大学硕士研究生论文, 2006.
- [11] 李新园, 唐琼, 熊学敏. 复方加味牵正合剂中自附子僵蚕的薄层色谱鉴别[J]. 江西医学院学报, 2001, 41(61):129.
- [12] 雷田香, 彭延古, 郝晓云, 等. 僵蚕抗凝作用的进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(3):76.
- [13] 杨琼, 廖森泰, 邢东旭, 等. 白僵蚕的化学成分和鉴别技术研究进展[J]. 蚕业科学, 2009, 35(3):696.

[责任编辑 顾雪竹]