

五指毛桃质量标准的研究

钟兆健, 宋粉云, 李书渊, 毋福海, 陈翠玲
(广东药学院, 广东 广州 510224)

摘要:目的: 研究五指毛桃的质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法对五指毛桃中的补骨脂素进行定性鉴别, 并用反相高效液相色谱法测定补骨脂素含量。结果: 补骨脂素在(0.0772~0.386) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间与峰面积线性关系良好($r=0.99997$), 平均回收率为99.2%, RSD=2.15%。方法精密度(RSD)为2.50% ($n=6$)。结论: 所用方法简便、准确、可靠, 能有效地控制五指毛桃的质量。

关键词: 五指毛桃; 补骨脂素; 薄层色谱法; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)05-0012-03

Study on Quality Standard of Radix Fici Simplicissimatis

ZHONG Zhao-jian, SONG Fen-Yun, LI Shu-yuan, WU Fu-Hai, CHEN Cui-ling
(Guangdong College of Pharmacy, Guangdong, Guangzhou 510224, China)

Abstract: Objective: To study the quality standard of Radix Fici simplicissimatis. Methods: Psoralen in Radix Fici simplicissimatis was identified by TLC. A RP-HPLC method was established to determine the content of psoralen in Radix Fici simplicissimatis. Results: The concentration of psoralen is linearly related to its peak area in the range of 7.44~38.60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.99997$), and the average recovery was 99.2% with RSD=2.15%. Precision of the method was 2.50% (RSD, $n=6$). Conclusion: The method is simple, accurate and reliable for quality control of this crude drug.

Key words: Radix Fici simplicissimatis; psoralen; TLC; A RP-HPLC

五指毛桃^[1]为桑科植物粗叶榕 *Ficus hirta* Vahl. 的干燥根。本品为常用中药, 具健脾补肺, 行气利湿, 舒筋活络之功效。主治脾虚浮肿, 食少无力, 肺

癆咳嗽, 盗汗, 带下, 产后无乳, 风湿痹痛, 水肿, 肝硬化腹水, 肝炎, 跌打损伤。由于五指毛桃经济价值较高, 目前广东河源等地已有大面积人工栽培。为评价五指毛桃的内在质量, 本文建立了五指毛桃中补骨脂素的薄层色谱法鉴别和高效液相色谱含量测定方法, 为五指毛桃的质量控制提供了实验方法。

收稿日期: 2004-09-21

通讯作者: 钟兆健, Tel: 13922137865, E-mail: fuhaiwu@163.com

1 仪器和药品

1.1 仪器 LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10AT 型紫外-可见检测器(日本岛津), 大连依利特色谱工作站(大连物理化学研究所)。

1.2 药材来源及处理 五指毛桃(批号 1, 广州中医药大学; 批号 2, 购自广州清平药材市场(新鲜); 批号 3, 购自广州市本草药业), 经广东药学院生药教研室房志坚副教授鉴定为真品。将其粉碎, 于 60℃ 下干燥 4h, 置干燥器内备用。定量方法学考察采用广州中医药大学的样品。

1.3 药品与试剂 补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所, 110739-200309), 甲醇为色谱纯, 水为双蒸水。其余所用试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 溶液的制备 取本品粉末 5g, 加醋酸乙酯 50mL, 超声 25min, 滤过, 滤液浓缩至干, 加醋酸乙酯 2mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取五指毛桃对照药材 5g, 同法制成对照药材溶液。另取补骨脂素对照品, 加醋酸乙酯溶解, 制成每 1mL 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2 薄层层析 照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VB) 试验, 吸取上述三种溶液各 3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯(8:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。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。在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光主斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱为 DramonsidTM-C₁₈ 柱(250mm \times 4.6mm, 5 μ m, 迪马公司), 流动相为甲醇-1% 乙酸(60:40), 流速: 0.8mL \cdot min⁻¹; 检测波长: 245nm; 柱温: 室温。

3.2 样品液制备

3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品 19.3mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品贮备液(浓度为 386 μ g \cdot mL⁻¹)。分别吸取一定量的补骨脂素对照品贮备液, 加甲醇稀释成浓度为 7.72、11.58、15.44、23.16、30.88、38.60 μ g \cdot mL⁻¹ 的溶液。

3.2.2 供试品溶液的制备 取本品粗粉约 0.25g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 50 mL, 精密称定重量, 浸泡过夜, 超声提取 40 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 弃去初滤液, 取

续滤液, 0.45 μ m 滤膜过滤, 作为供试品溶液。

3.3 色谱系统适应性试验 分别取对照品溶液(补骨脂素浓度为 23.16 μ g \cdot mL⁻¹)、供试品溶液 10 μ L 注入色谱仪, 按上述色谱条件, 记录色谱图(图 1)。理论板数以补骨脂素峰计算, 应不低于 9000; 补骨脂素的拖尾因子约为 1.09, 保留时间约为 8.6min, 补骨脂素与样品中其他组分的分离度大于 1.5。

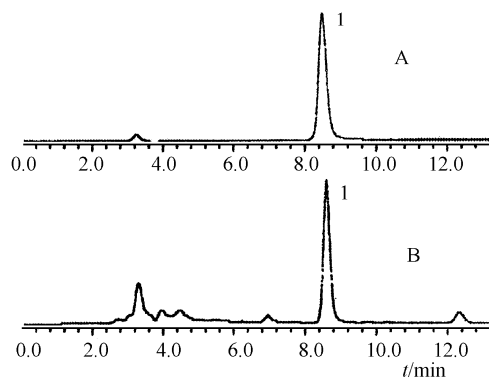


图 1 五指毛桃色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 补骨脂素

3.4 方法学考察

3.4.1 标准曲线制备 吸取不同浓度的对照品溶液各 10 μ L, 依次进样, 每个浓度测定 3 次以上。以峰面积(A) 对对照品溶液系列浓度(C) 进行回归, 得回归方程 $A = 20372.5C + 324.9$, 相关系数 $r = 0.99997$ 。表明补骨脂素在 0.072~ 0.386 μ g 之间与峰面积线性关系良好。

3.4.2 精密度试验 取浓度为 23.16 μ g \cdot mL⁻¹ 的补骨脂素对照品溶液 10 μ L, 连续测定 5 次, 记录峰面积并计算 RSD 为 0.32%, 表明仪器精密度良好。

3.4.3 重复性试验 取同一批号(批号 1) 样品 6 份, 按样品提取法提取、测定, 结果补骨脂素平均含量为 3.23 mg \cdot g⁻¹, RSD 为 2.50%。表明分析方法重复性良好。

3.4.4 稳定性试验 取供试品溶液(批号 1) 在 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 分别进样 10 μ L, 记录峰面积, 结果补骨脂素峰面积的 RSD= 1.55%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

3.4.5 加样回收试验 精密称取样品 6 份(批号 1), 加入补骨脂素对照品贮备液 1.2 mL, 按供试品溶液的制备方法处理并测定, 计算回收率, 结果见表 1。补骨脂素平均回收率为 99.2%, RSD= 2.15%。结果表明本方法准确可靠。

3.5 样品测定 取五指毛桃样品 3 批, 照 3.2.2 方法制备供试液, 另取 23.16 μ g \cdot mL⁻¹ 的对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 计算补

骨脂素的含量, 结果见表 2。

表 1 回收试验结果($n=6$)

编号	样品重 (g)	补骨脂素量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	0.1254	0.4050	0.4632	0.8732	101.1
2	0.1248	0.4031	0.4632	0.8702	100.8
3	0.1226	0.3960	0.4632	0.8511	98.3
4	0.1258	0.4063	0.4632	0.8678	99.6
5	0.1249	0.4034	0.4632	0.8452	95.4
6	0.1260	0.4070	0.4632	0.8715	100.3
平均回收率: 99.2%			RSD= 2.15%		

表 2 样品测定结果($n=3$)

批号	补骨脂素含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD (%)
1	3.23	2.50
2	8.68	2.48
3	1.25	2.01

4 讨论

五指毛桃的薄层色谱鉴别采用补骨脂素对照品及五指毛桃对照药材双对照。我们尝试了多个展开系统, 本文采用正己烷-醋酸乙酯(8:2)系统, 效果理想。

有文献报导^[2]薄层色谱法测定五指毛桃中补骨脂素的含量, 但薄层色谱法准确度和重复性都较差, 所以本文建立了高效液相色谱法, 方法简便、准确、可靠, 可用于五指毛桃的质量控制。

本实验中流动相曾选用甲醇-水^[3], 但达不到基

线分离。参照文献[4]选用甲醇-冰醋酸, 经反复实验探索, 采用甲醇-1% 乙酸(60:40)为流动相后, 方得满意结果。

本文分别以乙醇、甲醇为溶剂, 进行索氏提取和超声提取的对比研究, 结果表明甲醇提取比乙醇提取效率高, 超声提取比索氏提取效率高。并以甲醇为溶剂提取, 考察了超声提取 20 30 40 50 60min 对提取率的影响, 结果表明, 超声提取 40min 含量达稳定, 时间增加, 含量不会增加。表明 40min 已提取完全, 因此选择甲醇为溶剂, 超声提取 40min。

实验中发现, 药材越新鲜, 补骨脂素含量越高, 可能因为补骨脂素为挥发性成分^[5], 放置过程中含量会下降。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 人民卫生出版社, 1978. 90~91.
- [2] 陈勇, 甄汉荣, 陈美燕. 五指毛桃中补骨脂素的含量测定[J]. 中药材, 2002, 25(4): 265~266.
- [3] 谢琴, 王菊美, 黄礼杰, 等. 仙灵骨葆胶囊多指标成分的定量研究[J]. 中成药, 2001, 23(6): 411-414.
- [4] 田晓东, 俞桂心. 高效液相色谱法测定复方补骨脂酊中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 海峡药学, 2002, 14(1): 20-22.
- [5] 林励, 钟小清, 魏刚. 五指毛桃挥发性成分的 GC-MS 分析. 中药材, 2000, 23(4): 206-207.