

# 瑶药五爪金龙中牛蒡苷元薄层色谱及含量测定\*

雷沛霖<sup>1</sup>, 黄瑞松<sup>1\*\*</sup>, 李耀华<sup>2</sup>

(1. 广西国际壮医医院壮瑶药研发中心, 广西南宁 530001; 2. 广西中医药大学教学实验实训中心, 广西南宁 530299)

**摘要:**探索瑶药五爪金龙活性成分牛蒡苷元的薄层色谱(TLC)定性鉴别和高效液相色谱(HPLC)定量检测方法,寻找瑶药五爪金龙质量控制的依据。本研究采用薄层色谱法对药材中的牛蒡苷元进行定性鉴别,采用高效液相色谱法对药材中的牛蒡苷元进行含量测定。通过实验,确定了TLC定性鉴别和HPLC定量检测的方法。薄层色谱中牛蒡苷元斑点集中、清晰。高效液相色谱法中牛蒡苷元对照品在0.42~5.26 μg时,进样量与峰面积呈良好的线性关系。牛蒡苷元平均回收率为100.43%,RSD=2.09%。10批五爪金龙药材中牛蒡苷元含量在0.06%~0.52%。

**关键词:**五爪金龙 牛蒡苷元 TLC HPLC 瑶药 民族药 木质素

中图分类号:O657,R917 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2019)05-0517-05



微信扫一扫,与作者在线交流(OSID)

## 0 引言

五爪金龙是广西壮瑶聚集地区常见的多年生缠绕草本植物,也是广西少数民族地区常用民族药,其常攀缘于乡村及城市周边低矮建筑屋顶、外墙或其他植物生长,分布很广泛。《南宁市药物志》记载其名为五叶藤,五爪龙。原植物来源为旋花科植物五爪金龙(*Ipomoea cairica* (L.) Sw.)的干燥全草,因其叶片掌状五深裂或全裂形似手掌得名五爪金龙。中医用五爪金龙治肺热咳嗽,小便不利,淋病,尿血,痈疽肿毒<sup>[1-2]</sup>。瑶医认为本品淡,平,具有清热毒、除湿毒的作用,可治疗痈肿、疔、骨折、跌打损伤、痹病。然而近

年来没有五爪金龙药材的药学文献报道,也没有其药材标准,限制了五爪金龙的开发利用及临床使用。此外,该药材存在异药同名的现象,多个药材别名亦叫五爪金龙,容易混淆,导致混用错用。因此,本文作者在野外采集广西10个产地的野生五爪金龙药材,经鉴定为正品后,对药材成分进行分析研究,拟找出能够作为五爪金龙药材定性鉴别及定量分析的特征成分。

笔者在研究中发现药材中木质素类成分牛蒡苷元含量较高。牛蒡苷元是五爪金龙药材中含有的药效活性成分<sup>[3]</sup>。现代药理研究报道其具有抗病毒、抗肿瘤、抗炎等多种药理作用<sup>[4-6]</sup>。这些药理作用与药材功效相关,能体现出牛蒡苷元在该药材使用及治疗

\* 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科重 1598005-10),广西壮族自治区瑶药材质量标准(第二卷)质量评价和标准研究项目(MZY2017004)资助。

### 【作者简介】

雷沛霖(1982—),男,助理研究员,主要从事民族药质量标准及药物分析研究。

### 【\*\*通信作者】

黄瑞松(1958—),男,主任药师,主要从事民族药质量标准及其新药研发,E-mail:hrs.3130064@163.com。

### 【引用本文】

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20191024.013

雷沛霖,黄瑞松,李耀华. 瑶药五爪金龙中牛蒡苷元薄层色谱及含量测定[J]. 广西科学, 2019, 26(5): 517-521.

LEI P L, HUANG R S, LI Y H. Study on TLC and HPLC of arctigenin in Yao Medicine *Ipomoea cairica* (L.) Sw. [J]. Guangxi Sciences, 2019, 26(5): 517-521.

过程中发挥的重要意义。查阅并参考相关文献<sup>[7-8]</sup>的基础上,本研究开展了对五爪金龙药材中牛蒡苷元的定性和定量检测方法的探索,拟寻找一个操作简捷方便、准确、可重现性好的检测方法,为五爪金龙药材质量的检测提供依据并为后期研究打下基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

安捷伦 1260 infinity 高效液相色谱仪(美国安捷伦),YOKO-ZS 紫外分析摄影仪(武汉药新技术开发有限公司),METTLER TOLEDO XS 205 电子分析天平(瑞士梅特勒托利多公司),KQ-300DB 型数控超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),HHitech 和泰水纯化系统(上海和泰仪器有限公司),LHP-250 型智能恒温恒湿培养箱(上海鸿都电子科技有限公司)。牛蒡苷元为成都瑞芬思生物科技有限公司提供(纯度大于 98%)(批号:N-013-160406)。硅胶 G 板(青岛海洋化工厂分厂),乙腈(美国默克公司)为色谱纯,高纯水实验室自制。其余试剂均为分析纯。

10 批次药材经由广西中医药大学韦松基教授、广西中医药研究院赖茂祥研究员和黄云峰副研究员鉴定为旋花科植物五爪金龙(*Ipomoea cairica* (L.) Sw.)的干燥全草。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 薄层色谱法(TLC)定性鉴别

##### 1.2.1.1 样品溶液制备

取五爪金龙样品粉末(过四号筛)2 g,加甲醇(100%甲醇)20 mL,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,滤过,滤液用 40 mL 石油醚(60~90℃)萃取 2 次,弃去石油醚液,甲醇液浓缩至 2 mL 作为供试品溶液。再取牛蒡苷元对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 牛蒡苷元的对照品溶液。

##### 1.2.1.2 定性鉴别

薄层色谱法按照 2015 年版《中国药典》四部通则 0502<sup>[9]</sup>方法进行实验:吸取 1.2.1.1 节 2 种溶液各 2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷:乙酸乙酯:甲酸(11:9:0.4,V:V:V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇试液,105℃ 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。

#### 1.2.2 高效液相色谱法(HPLC)定量测定牛蒡苷元含量

色谱条件:色谱柱为菲罗门 Gemini 5u C18 (4.6 mm×250 mm,5  $\mu$ m),以甲醇:水(45:55,V:V)

为流动相,检测波长为 280 nm,流速 1 mL/min,柱温为室温,理论板数按牛蒡苷元峰计算应不低于 2 000。

供试品溶液的制备:取五爪金龙样品粉末(过四号筛)约 1 g,精密称定,精密加入甲醇 40 mL,称定质量,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,放冷至室温,再称定质量,用甲醇补足缺失的质量,0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过滤过,取续滤液,即得五爪金龙样品供试液。

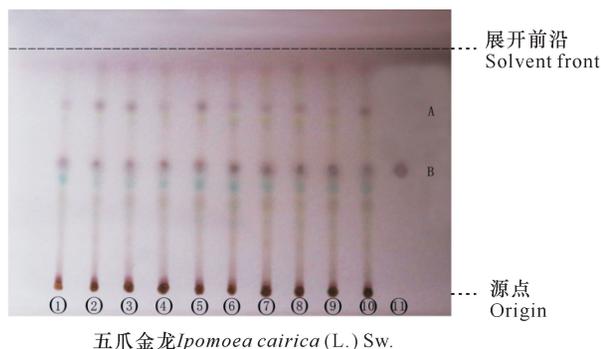
对照品溶液的制备:取牛蒡苷元对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含牛蒡苷元 0.4 mg 的溶液,即得牛蒡苷元对照品供试液。

将供试品溶液及对照品溶液分别取 10  $\mu$ L 注入高效液相色谱仪进行检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 五爪金龙药材的定性鉴别(TLC 法)

10 批次五爪金龙药材的 TLC 实验结果详见图 1。



①北海市合浦县;②南宁市高峰林场;③南宁市隆安县;④南宁市邕武小学;⑤百色市右江区;⑥宾阳县露圩镇;⑦来宾市金秀县;⑧南宁市横县;⑨南宁市西乡塘区;⑩百色市右江学院澄碧湖校区;⑪牛蒡苷元对照品;A:紫红色斑点;B:紫红色斑点

① Hepu County, Beihai City; ② Nanning Gaofeng Forest Farm; ③ Long'an County, Nanning City; ④ Nanning Yongwu Primary School; ⑤ Youjiang District, Baise City; ⑥ Luxu Village, Binyang County; ⑦ Jinxiu County, Laibin City; ⑧ Hengxian County, Nanning City; ⑨ Xixiangtang District, Nanning City; ⑩ Chengbiyu Campus of Youjiang College, Baise City; ⑪ Arctigenin reference substance; A: Purple spots; B: Purple spots

图 1 10 批五爪金龙样品 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of 10 batches of *Ipomoea cairica* (L.) Sw.

从薄层色谱图(图 1)可以看出,五爪金龙药材供试品溶液中牛蒡苷元与牛蒡苷元对照品溶液的颜色、位置都对应,且斑点清晰,与前后斑点分离,Rf 值适中。薄层板上还有另一紫红色共有斑点。可见薄层

方法能有效鉴别五爪金龙中的牛蒡苷元。

## 2.2 五爪金龙药材的牛蒡苷元含量定量测定 (HPLC法)

### 2.2.1 高效液相色谱图

牛蒡苷元对照品与五爪金龙药材(样品编号 WZJL-5)HPLC 色谱图结果见图 2 与图 3。

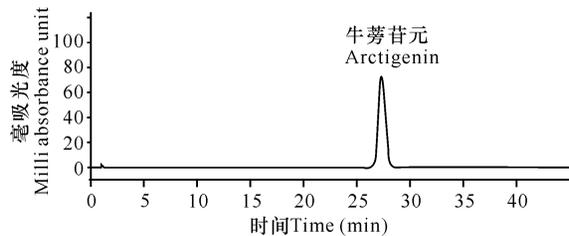


图 2 牛蒡苷元 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of arctigenin

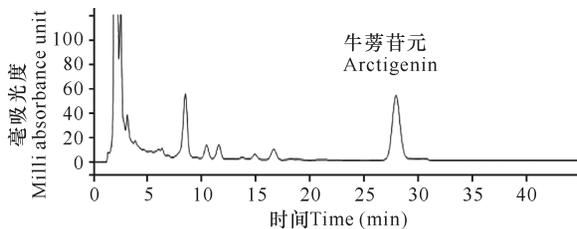


图 3 五爪金龙 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of *Ipomoea cairica* (L.) Sw.

### 2.2.2 线性关系考察

取牛蒡苷元对照品适量,精密称定,加甲醇制备成 1.053 5 mg/mL 的溶液,备用。分别精密吸取牛蒡苷元对照品溶液 0.4 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL 置 10 mL 量瓶中,各加甲醇至刻度,摇匀,即得线性供试液。将牛蒡苷元对照品溶液按照标准正文色谱条件分别进样 10  $\mu$ L,测定,以对照品的进样量( $\mu$ g)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。结果:回归方程为  $y = 83.229x$ ,  $R^2 = 0.9997$ ,表明当牛蒡苷元对照品进样量在 0.42 ~ 5.26  $\mu$ g 时,进样量与峰面积呈良好的线性关系,详见图 4。

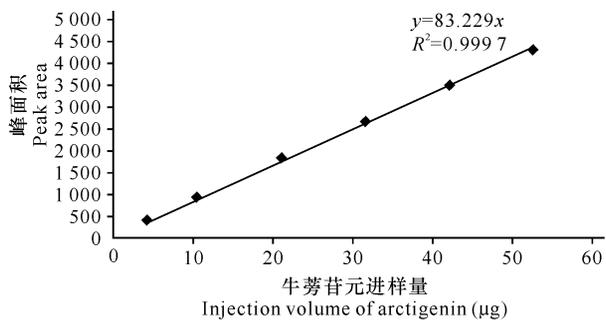


图 4 牛蒡苷元线性图

Fig. 4 Linear diagram of arctigenin

### 2.2.3 定量检测方法性能考察

#### 2.2.3.1 重复性

取同一份供试品溶液(WZJL-5),按照 1.2.2 项下供试液制备方法及色谱条件连续测定 5 次。结果:5 次测定的牛蒡苷元峰面积平均值为 2 786.1,  $RSD = 0.91\%$  ( $n = 5$ ),表明含量测定方法的重复性良好。

#### 2.2.3.2 重现性

取同一批样品(WZJL-5)粉末,按照 1.2.2 项下供试液制备方法平行制备 6 份供试品溶液,测定牛蒡苷元含量。结果:6 份样品测得牛蒡苷元含量的平均值为 0.36%,  $RSD = 1.35\%$  ( $n = 6$ ),表明含量测定方法的重现性良好。

#### 2.2.3.3 稳定性

取同一份供试品溶液(WZJL-5),按照 1.2.2 项下供试液制备方法及色谱条件,于 0 h、2 h、4 h、6 h、8 h、24 h 分别进样,测定峰面积值。结果:牛蒡苷元峰面积平均值为 2 782.1,  $RSD = 0.43\%$  ( $n = 6$ ),表明供试品溶液中牛蒡苷元含量在 24 h 内是稳定的。

#### 2.2.3.4 加样回收率测定

取牛蒡苷元适量,加甲醇制成浓度为 0.04 mg/mL 的溶液。采用加样回收法,分别称取同一批样品(WZJL-5)粉末约 0.5 g 共 6 份,精密称定,分别加入上述牛蒡苷元对照品溶液 40 mL,按照 1.2.2 项下供试液制备方法制备供试品溶液,并测定其平均回收率及  $RSD$ 。结果:样品中牛蒡苷元平均回收率为 100.43%,  $RSD = 2.09\%$  ( $n = 6$ ),详见表 1。

表 1 加样回收实验结果 ( $n = 6$ )

Table 1 Result of sample addition recovery test ( $n = 6$ )

样品编号 No.	样品含量 Sample contents (mg)	加入量 Addition arctigenin (mg)	检出量 Actual quantity (mg)	加样回收率 Addition recovery rate (%)
1	1.605	1.6	3.205	97.97
2	1.624	1.6	3.224	97.70
3	1.606	1.6	3.206	100.75
4	1.645	1.6	3.245	101.39
5	1.651	1.6	3.251	102.43
6	1.625	1.6	3.225	102.33

#### 2.2.3.5 10 批药材中牛蒡苷元含量测定结果

按照 1.2.2 项下供试液制备方法制备 10 批五爪金龙药材供试品溶液,并测定牛蒡苷元含量,结果见表 2。

表 2 10 批五爪金龙药材样品中牛蒡苷元含量测定结果  
Table 2 Determination result of arctigenin content in 10 batches of *Ipomoea cairica* (L.) Sw.

编号 No.	采集地点 Collecting locations	牛蒡苷元含量 Arctigenin content (%)
WZJL-1	北海市合浦县 Hepu County, Beihai City	0.19
WZJL-2	南宁市高峰林场 Nanning Gaofeng Forest Farm	0.13
WZJL-3	南宁市隆安县 Long'an County, Nanning City	0.37
WZJL-4	南宁市邕武小学 Nanning Yongwu Primary School	0.39
WZJL-5	百色市右江区 Youjiang District, Baise City	0.36
WZJL-6	南宁市宾阳县 Luxu County, Binyang	0.52
WZJL-7	来宾市金秀县 Jinxiu County, Laibin City	0.38
WZJL-8	南宁市横县 Hengxian, Nanning City	0.35
WZJL-9	南宁市西乡塘区 Xixiangtang District, Nanning City	0.31
WZJL-10	百色市右江学院澄碧湖校区 Chengbihu Campus of Youjiang College, Baise City	0.06

注:10 批广西产的五爪金龙药材样品液中,牛蒡苷元含量为 0.06%~0.52%,平均含量为 0.31%

Note: The content of arctigenin was 0.06%—0.52% with an average content of 0.31% in 10 batches of *Ipomoea cairica* (L.) Sw. from Guangxi

#### 2.2.4 HPLC 结果分析

从液相色谱图结果(图 2 和图 3)可以看出,在此色谱条件下,牛蒡苷元色谱峰的峰形尖锐,峰具对称性,分离度均较理想,且出峰时间合理,避免了其他峰的干扰。线性实验表明,采集的 10 批药材含量均在线性范围内,可以直观地检测出药材中牛蒡苷元的含量。方法性能考察实验显示,本文方法科学、准确,可重复性好。另外,10 批药材的牛蒡苷元含量测定结果表明,广西不同产地药材中的牛蒡苷元含量差异较大。但从含量上看,10 批五爪金龙均富含牛蒡苷元,故本文研究选取的木质素类成分牛蒡苷元适合作为五爪金龙药材质量控制的指标成分。这对五爪金龙药材的质量标准控制研究具有重要意义,并提供了有助于药材后续研究的质量控制基础。

### 3 结论

五爪金龙是广西少数民族地区常用的一个民族药,且野生分布广泛,容易获取。本研究探索瑶药五爪金龙中牛蒡苷元的定性、定量分析检测方法。本文对五爪金龙药材中牛蒡苷元的定性鉴别及定量检测方法操作简便,准确度高,重现性好,为建立五爪金龙药材质量标准提供了指标性成分的来源。该方法可以作为瑶药五爪金龙鉴别、检测及质量控制的理论依据和手段。另外,牛蒡苷元是药理活性成分,五爪金龙药材中牛蒡苷元的含量较高,可以成为牛蒡苷元成分提取物的来源药材,对拓展药源和提升五爪金龙药材市场利用率有十分重要的意义。

#### 参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第 6 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:512.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典:上册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:378.
- [3] SCHRÖDER H C, MERZ H, STEFFEN R, et al. Differential in vitro anti-HIV activity of natural lignans [J]. Z Naturforsch C, 1990, 45(11/12): 1215-1221.
- [4] 高阳,董雪,康廷国,等. 牛蒡子苷元体外抗流感病毒活性[J]. 中草药, 2002, 33(8): 724-726.
- [5] 王静泓,姜孝新,曾乐平,等. 牛蒡子苷元通过抑制 PI3-K/Akt 信号通路诱导肝癌细胞凋亡[J]. 肿瘤药学, 2015, 5(6): 430-435.
- [6] KOU X, QI S, DAI W, et al. Arctigenin inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS expression in RAW264. 7 cells through suppressing JAK-STAT signal pathway [J]. International Immunopharmacology, 2011, 11(8): 1095-1102.
- [7] 苏青,雷沛霖,黄瑞松. 壮药制剂武打将军酊质量标准研究[J]. 广西科学, 2015, 22(6): 620-626.
- [8] 梁冰,覃兰芳,赖茂祥,等. 高效液相色谱法测定广西壮药毛郁金中姜黄素的含量[J]. 广西科学, 2012, 19(2): 149-151.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 2015 年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:57-59.

## Study on TLC and HPLC of Arctigenin in Yao Medicine *Ipomoea cairica* (L.) Sw.

LEI Peilin<sup>1</sup>, HUANG Ruisong<sup>1</sup>, LI Yaohua<sup>2</sup>

(1. Guangxi International Zhuang Medical Hospital Zhuangyao Pharmaceutical Research and Development Center, Nanning, Guangxi, 530001, China; 2. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine Teaching and Experimental Training Center, Nanning, Guangxi, 530299, China)

**Abstract:** To explore the TLC qualitative identification and HPLC quantitative detection method of the active component of Yao medicine *Ipomoea cairica* (L.) Sw. can help to find the basis for the quality control of Yao medicine *Ipomoea cairica* (L.) Sw. In this research, the arctigenin in herb was qualitatively identified by TLC. The content of arctigenin in herb was determined by HPLC. Through experiments, TLC qualitative identification and HPLC quantitative detection methods were determined. The spots of arctigenin in TLC were concentrated and clear. The injection volume had a good linear relationship with the peak area when the arctigenin reference substance in HPLC is 0.42–5.26  $\mu\text{g}$ . The average recovery rate of arctigenin was 100.43%, and RSD was 2.09%. The content of arctigenin in 10 batches of *Ipomoea cairica* (L.) Sw. was between 0.06% and 0.52%.

**Key words:** *Ipomoea cairica* (L.) Sw., arctigenin, TLC, HPLC, Yao medicine, ethnodrug, lignin

责任编辑: 陆雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: gxkx@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>