

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.17.020

鸡骨草中不同药用部位相思子碱和夏佛塔苷含量测定

刁璇, 吴熙, 丘艺涵, 罗雅丽, 王燕明, 王淑红[△]

(广东省深圳市药品检验研究院, 广东 深圳 518057)

摘要:目的 建立同时测定鸡骨草中不同部位相思子碱和夏佛塔苷2种活性成分含量的超高效液相色谱(UPLC)法。方法 色谱柱为HSS T3 C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸(B), 梯度洗脱, 流速为0.3 mL/min, 检测波长为270 nm, 柱温为30℃, 进样量为2 μL。结果 相思子碱和夏佛塔苷的质量浓度线性范围分别为5.068~126.7 μg/mL($r=0.9999$)和9.602~240.1 μg/mL($r=1.0000$); 平均回收率分别为98.38%和97.39%, RSD分别为1.30%和1.02% ($n=9$); 20批不同部位样品中相思子碱和夏佛塔苷的含量范围分别为0.1197~0.2651 mg/g和0.2011~6.0421 mg/g。结论 该方法简便、专属性强, 增加了质量控制指标, 可为该饮片质量标准的完善提供依据。

关键词:鸡骨草; 相思子碱; 夏佛塔苷; 超高效液相色谱法

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)17-0077-04

Content Determination of Abrin and Schaftoside Flavones in *Abri Herba* from Different Medicinal Portions

DIAO Xuan, WU Xi, QIU Yihan, LUO Yali, WANG Yanming, WANG Shuhong

(Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen, Guangdong, China 518057)

Abstract: Objective To establish a method for the simultaneous determination of abrine and schaftoside in *Abri herba* from different medicinal portions by ultra performance liquid chromatography(UPLC). **Methods** The separation was performed by HSS T3 C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile(A)-0.1% formic acid(B) by gradient elution at a flow rate of 0.3 mL/min; the wavelength was 270 nm, the column temperature was 30℃, and the injection volume was 2 μL. **Results** The linear ranges of abrine and schaftoside were 5.068-126.7 μg/mL($r=0.9999$) and 9.602-240.1 μg/mL($r=1.0000$). The average recoveries were 98.38% and 97.39%, respectively, and RSDs were 1.30% and 1.02% ($n=9$). The content ranges of abrine and schaftoside in 20 batches of sample were 0.1197-0.2651 mg/g and 0.2011-6.0421 mg/g. **Conclusion** This method is simple with good specificity and increases the quality control index, which can provide reference for the improvement of the intrinsic quality of *Abri herba*.

Key words: *Abri herba*; abrine; schaftoside; ultra performance liquid chromatography

鸡骨草为岭南常用草药, 初载于《岭南采药录》:“叶似铁线, 形如冬瓜子, 对生。”^[1]《新编中药志》中记载鸡骨草来源于豆科蝶形花亚科相思子属植物广州相思子^[2]。鸡骨草最早收载于1977年版《中国药典》, 2015年版《中国药典(一部)》规定:鸡骨草为豆科植物广州相思子 *Abrus cantoniensis* Hance 的干燥全株, 全年均可采挖, 除去泥沙, 干燥^[3], 性凉, 味甘淡, 具有清热解毒、疏肝止痛之功效^[4], 广泛用于黄疸, 胁肋不舒, 胃脘胀痛, 急、慢性肝炎及肝硬化腹水等疾病^[5-8], 是一种药食同源中药材, 可在春夏季用来煲汤作为食疗^[9]。鸡骨草全草含生物碱、甾醇、皂苷、黄酮类、大萘酚类、大萘素甲醚氨基酸等化合物^[10-11]。因鸡骨草药材炮制方法属于切制, 参照2015年版《中国药典(一部)》凡例规定:“正文中饮片炮制项为净制、切制的, 其饮片名称或相关项目亦与药材相同。”鸡骨草药材项下仅有鉴别项, 无含量测定项, 其质量控制有待完善。本研究中建立了测定鸡骨草中生物碱类成分相思子碱^[12]和黄酮碳苷类成分夏佛塔苷含量的超高效液相色谱(UPLC)法, 并比较了不同药用部位2种活性

成分的含量, 为鸡骨草饮片的质量控制提供新依据, 并对鸡骨草不同药用部位的质量进行评价。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

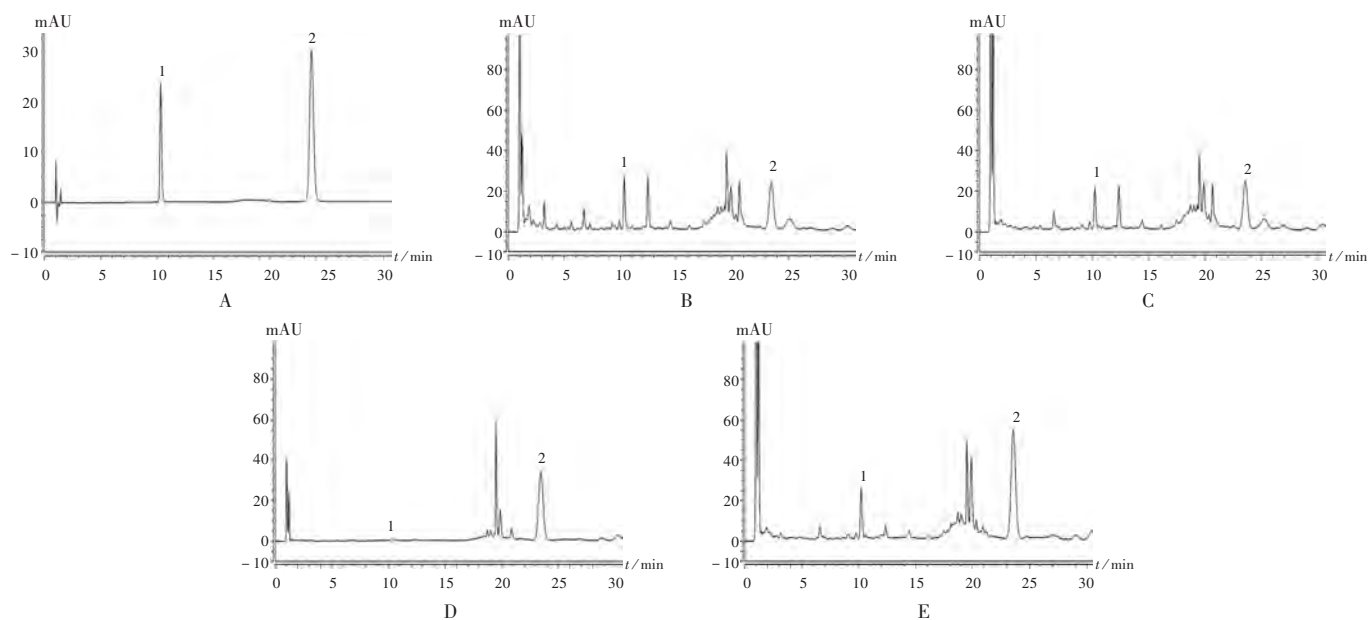
Thermo Ultimate 300 型超高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司, 包括四元梯度泵, 自动进样器, Thermo 紫外检测器; XS205 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司, 精度为0.01 mg); WNB14 型恒温电热锅(德国 Memmert 公司); Milli-Q 型超纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.2 试剂

水为超纯水; 乙腈、甲酸均为色谱纯, 其余试剂均为分析纯; 相思子碱对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号为5891, 含量为99.5%); 夏佛塔苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为111921-201703, 含量为95.6%); 鸡骨草的不同药用部位[鸡骨草全草 Herbs of *Abri Herba*(S1, S3~S5 产地为广东; S2 产地为四川); 鸡骨草根 Roots of *Abri Herba*(S6 产地为贵州);

第一作者: 刁璇, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为中药质量控制方法及质量标准, (电子信箱)dxapple729@163.com。

[△]通信作者: 王淑红, 女, 土家族, 硕士研究生, 主任中医师, 研究方向为中药质量控制方法及质量标准, (电子信箱)1779257380@qq.com。



1. 相思子碱 2. 夏佛塔昔

A. 混合对照品溶液 B. 鸡骨草全草供试品溶液 C. 鸡骨草根供试品溶液 D. 鸡骨草茎供试品溶液 E. 鸡骨草叶供试品溶液

图1 高效液相色谱图

S7~S8, S10 产地为广西, S9 产地为广东); 鸡骨草茎 Stem of *Abri Herba* (S11~S15 产地为广西); 鸡骨叶 Leaf of *Abri Herba* (S16~S17, S20 为广西; S18~19 产地为广东)] 均购于各地药材市场, 经广东省深圳市药品检验研究院中药室王淑红主任药师鉴定为正品, 分别为广州相思子 *Abrus cantoniensis* Hance 的干燥全草、根、茎、叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱: UPLC HSS T3 C_{18} 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); 流动相: 乙腈(A) - 0.1% 甲酸溶液(B), 梯度洗脱 (见表1); 流速: 0.3 mL/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 2 μ L。相思子碱和夏佛塔昔峰理论板数均大于 20 000。色谱图见图1。

2.2 溶液制备

粉碎鸡骨草不同药用部位, 过 50 目筛, 取 1 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 加 50% 乙醇 100 mL, 加热回流 2 h, 滤过, 滤液蒸干, 样品 S1~S15 的残渣用 50% 乙醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度; 样品 S16~S20 的残渣用 50% 乙醇溶解, 转移至 100 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。取相思子碱、夏佛塔昔对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 126.7, 240.1 μ g/mL 的对照品贮备液; 分别精密量取上述贮备液 2 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 分别精密量取 2.2 项下对照品贮备液 0.4, 1, 2, 4, 10 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇定容

表1 流动相梯度洗脱程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)	时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	2	98	15→16	15	85
9→13	7	93	17→30	10	90
14	14	86			

至刻度, 按拟订色谱条件测定, 以对照品质量浓度 (X) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得相思子碱和夏佛塔昔回归方程 $Y_{\text{相}} = 0.1587 X_{\text{相}} + 0.0541$ ($r = 0.9999$), $Y_{\text{夏}} = 0.2454 X_{\text{夏}} + 0.0696$ ($r = 1.0000$)。结果表明, 两者质量浓度分别在 5.068 ~ 126.7 μ g/mL, 9.602 ~ 240.1 μ g/mL ($n = 5$) 范围内与峰面积线性关系良好。

稳定性试验: 取样品 (编号为 S5), 依法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 h 时进样 2 μ L, 记录峰面积。结果相思子碱、夏佛塔昔峰面积的 RSD 分别为 0.32%, 0.21% ($n = 6$), 表明供试品溶液在室温放置 48 h 内基本稳定。

精密度试验: 取混合对照品溶液, 按拟订色谱条件连续进样 6 次, 记录相思子碱、夏佛塔昔的峰面积。结果的 RSD 分别为 0.28%, 0.31% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 取样品 (编号为 S5) 粉末, 依法平行制备 6 份供试品溶液, 按拟订色谱条件进样测定, 结果相思子碱、夏佛塔昔平均含量分别为 0.2444, 0.4374 mg/g, RSD 分别为 0.41%, 0.36% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取同一批 (编号为 S5) 已知含量的鸡骨草叶样品 9 份, 每份 1 g, 精密称定, 分别精密加入

表2 加样回收试验结果($n=9$)

取样量(g)		样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}(\%)$		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1.031 4	1.031 4	0.258 1	0.431 6	0.126 7	0.240 1	0.385 5	0.665 6	100.55	97.46				
1.028 7	1.028 7	0.257 4	0.430 5	0.126 7	0.240 1	0.384 7	0.660 6	100.47	95.84				
1.093 2	1.093 2	0.273 5	0.457 5	0.126 7	0.240 1	0.396 6	0.689 5	97.16	96.63				
1.033 5	1.033 5	0.258 6	0.432 5	0.253 4	0.480 1	0.505 0	0.897 8	97.24	96.92				
1.084 4	1.084 4	0.271 3	0.453 8	0.253 4	0.480 1	0.519 3	0.927 5	97.86	98.67	98.38	97.39	1.30	1.02
1.038 9	1.038 9	0.259 9	0.434 8	0.253 4	0.480 1	0.507 0	0.907 8	97.51	98.52				
1.065 0	1.065 0	0.266 5	0.445 7	0.380 1	0.720 2	0.639 7	1.140 9	98.18	96.53				
1.068 3	1.068 3	0.267 3	0.447 1	0.380 1	0.720 2	0.640 3	1.149 9	98.13	97.58				
1.063 5	1.063 5	0.266 1	0.445 1	0.380 1	0.720 2	0.639 8	1.153 7	98.32	98.39				

注:A为相思子碱,B为夏佛塔昔。

一定量相思子碱、夏佛塔昔对照品溶液,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,并计算回收率。结果见表2。

2.4 样品含量测定

取20批鸡骨草药材适量,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,采用回归方程法计算含量。结果见表3。

表3 鸡骨草中2种成分含量测定结果(mg/g)

样品编号	相思子碱	夏佛塔昔	样品编号	相思子碱	夏佛塔昔
S1	0.238 5	0.450 4	S11	0.248 2	0.833 3
S2	0.122 3	0.434 4	S12	0.261 7	0.759 9
S3	0.221 9	0.429 8	S13	0.263 3	0.760 6
S4	0.243 7	0.453 5	S14	0.259 8	0.723 6
S5	0.250 2	0.440 2	S15	0.265 1	0.924 0
S6	0.119 7	0.201 9	S16	0.146 0	4.311 6
S7	0.183 5	0.201 1	S17	0.208 1	3.924 1
S8	0.188 9	0.210 5	S18	0.204 7	6.042 1
S9	0.180 5	0.201 9	S19	0.154 3	6.019 5
S10	0.214 8	0.228 3	S20	0.219 7	4.996 1

3 讨论

3.1 提取方法选择

曾对不同提取溶剂(甲醇、70%甲醇、50%乙醇)及不同提取方法(加热回流、超声提取)进行考察,以提取效率最高、提取方法稳定、环境污染小为指标,且黄酮类化合物多以中浓度乙醇^[13]提取效率最高,故最终选择50%乙醇为提取溶剂、加热回流。

3.2 主要活性成分选择

鸡骨草的主要活性成分为生物碱和黄酮类物质,生物碱类物质相思子碱能减少小鼠耳廓质量,并减轻其肿胀程度,还能改善其免疫功能,增加免疫器官如胸腺、脾脏的质量^[14],故相思子碱成为鸡骨草抗肝炎的有效成分。黄酮类物质夏佛塔昔可通过减少脂质的合成来促进

脂质代谢,对脂肪肝起保护作用^[15-16],故选择相思子碱和夏佛塔昔为特征性指标成分。

3.3 不同药用部位含量差异

曾对鸡骨草不同药用部位进行分析,20批样品中相思子碱含量基本一致,夏佛塔昔含量差异明显(叶>茎>全草>根),叶中的含量约为全草的10倍,与鸡骨草不同部位的醇溶性浸出物结果一致,对鸡骨草药材的采摘有一定指导意义。

3.4 方法评价

本研究中建立的UPLC法简单,选用溶剂适宜,检测波长合理,色谱分离效果良好,可为鸡骨草饮片的质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] 马 骥,刘传明. 岭南采药录考证与图谱[M]. 广州:广东科技出版社,2016:114.
- [2] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社,2001:12.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:253.
- [4] 刘 燕,刘 艳,马宇颖,等. 鸡骨草叶总生物碱的含量测定及其体外抗氧化活性研究[J]. 中国医药导报,2016,13(28):25-27.
- [5] 单 纯,江振洲,王 涛,等. 中药鸡骨草化学成分及其研究进展[J]. 药学进展,2011,35(6):264.
- [6] 陈晓白,甘耀坤,王晓平,等. 鸡骨草对SD大鼠血脂及肝脏的影响[J]. 中国医药指南,2009,7(23):28-29.
- [7] 池晓玲. 湿气重试试鸡骨草煲汤[N]. 健康时报,2015-06-29(8).
- [8] 林壮民,何秋燕,周 秀,等. 鸡骨草中抗炎药效物质基础研究[J]. 时珍国医国药,2018,29(8):1825-1827.
- [9] 李庭树,黄锁义. 鸡骨草的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(10):226-234.
- [10] 徐柯心,贾子尧,王宝利,等. 中药鸡骨草化学成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(7):126.
- [11] YUAN XJ, LIN L, ZHANG XQ, et al. Abrusamide A and B, two epatoprotective isomeric compounds from *Abrus mollis* Hance[J].