

· 质量分析研究 ·

不同树脂环纹数鸡血藤药材质量的分析和评价

陈军¹, 孟爽爽¹, 李苗苗², 詹若挺^{2,3}, 韩正洲⁴, 刘军民^{2,3} [1. 深圳市中医院药学部, 广东 深圳 518033; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 3. 岭南中药资源教育部重点实验室(广州中医药大学), 广东 广州 510006; 4. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518002]

摘要: **目的** 考察鸡血藤断面树脂环纹数与其药材品质之间的相关性。**方法** 醇溶性浸出物含量按照《中国药典:一部》(2015年版)附录XA法测定;采用高效液相色谱法测定原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素及染料木素的含量及建立高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,用SPSS对其环纹数与醇溶性浸出物及5个化学成分进行相关性分析。**结果** 醇溶性浸出物的含量在3环左右时达到一个峰值,后随着环纹数的增加,变化趋势有所不同。不同树脂环纹数药材中原儿茶酸、儿茶素及表儿茶素的含量差异较大,而芒柄花素与染料木素的含量差异较小,其中儿茶素与表儿茶素、芒柄花素与染料木素在不同树脂环纹药材中的动态变化趋势较为一致;除1环样品外,同一植株不同环纹数的药材样品具有较高的相似度;环纹数与醇溶性浸出物及5个化学成分之间无显著相关性。**结论** 各指标性成分的含量与树脂环纹数之间没有一定的相关性,鸡血藤横切面的树脂环纹数的多少不可以作为评判药材质量优劣的直观依据,但以3环以上入药为宜。

关键词: 鸡血藤;树脂环纹数;质量分析;高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)03-0392-08

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.03.013

Quality Analysis of *Spatholobi Caulis* with Different Resin Ring Number

CHEN Jun¹, MENG Shuangshuang¹, LI Miaomiao², ZHAN Ruoting^{2,3}, HAN Zhengzhou⁴, LIU Junmin^{2,3} (1. Department of Pharmacy, Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518033 Guangdong, China; 2. School of Pharmaceutical Science, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 3. Ministry of Education Key Laboratory of Chinese Medicinal Resource from Lingnan, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 4. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518002 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To study the correlation between the number of resin rings and the quality of *Spatholobi caulis*. **Methods** Ethanol-soluble extractives were measured by the method of (a) Appendix XA in Chinese Pharmacopoeia (2015 edition); HPLC was used to determine the contents of protocatechuic acid, catechin, epicatechin, formononetin and genistein in *Spatholobi caulis* and to establish the HPLC fingerprint. Correlation between the number of resin rings and ethanol-soluble extractives and 5 components of *Spatholobi caulis* were analyzed by SPSS 22.0. **Results** The contents of ethanol-soluble extractives reach a peak in the decoction pieces of *Spatholobi caulis* with resin ring numbers of about 3, and then the trends of changes are different with the increase of the resin ring number. The contents of protocatechuic acid, catechin and epicatechin showed obvious difference in herbs with different resin ring numbers. The contents varied slightly between formononetin and genistein in herbs with different resin ring numbers. Similar trends of content changes of catechin, epicatechin, formononetin and genistein's were observed. Samples with different resin ring numbers taken from a certain individual plant had high degree in similarities (except that with only one resin ring) of HPLC fingerprints. There is no significant correlation

收稿日期: 2020-08-09

作者简介: 陈军, 女, 硕士, 主任中药师, 研究方向: 中药材品质评价、临床药学。Email: yjkej@163.com。通信作者: 詹若挺, 博士, 研究员, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药资源可持续利用研究与开发工作。Email: ruotingzhan@vip.163.com; 刘军民, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药材 GAP 与中药材品质评价研究。Email: liujunmin@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家中药材扶持项目-鸡血藤规范化种植(GAP)技术研究及产业化基地建设项目(工信部规[2015]282号)。

between the ring number and ethanol-soluble extractives and the five chemical components. **Conclusion** There is no correlation between the ring number and the contents of indicative components. The number of resin ring in transverse cannot be used for the quality judgment of *Spatholobi caulis*. It was suggested that herbs with not less than 3 resin rings could be used as medicine.

Keywords: *Spatholobi caulis*; resin ring; quality analysis; HPLC

鸡血藤为主产于广东、广西、云南等地的岭南特色药材,《中国药典:一部》(2015 年版)收载为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn. 的干燥藤茎,具有补血、活血、通络之功效,用于治疗月经不调、血虚萎黄、麻木瘫痪、风湿痹痛等症^[1],为鸡血藤片、金鸡胶囊、妇科千金片、花红片、正天丸等中成药的组方原料,临床应用广泛,药用需求量大。

鸡血藤为多年生木质藤茎类药材,野生种群主要分布于山地林间。随着经济林地的开发,其群落生态环境遭受严重破坏,野生种群遭到掠夺性砍伐,种群恢复与更新速度缓慢,加上鸡血藤使用量增加,国内野生资源已满足不了用药需求,商品药材多从越南、缅甸、柬埔寨等国进口。由于产地生态环境及植株生长年限的不同,藤茎的不同部位粗细不一,断面的树脂环纹数及色泽差异较大,药材质量参差不齐。现行《中国药典》收录的鸡血藤药材性状鉴定项下没有规定断面的树脂环纹数,要求醇溶性浸出物含量不得少于 8%,传统入药习惯以 3 环以上为宜。鸡血藤断面树脂环纹数能否作为评判药材内在品质的性状指标,尚待进一步研究。据化学成分及药理研究结果,学者们推测黄酮类成分可能是鸡血藤对血液系统作用及抗肿瘤等活性部位^[2-4]。鸡血藤总黄酮中的黄烷醇类成分,如儿茶素和表儿茶素含量较高;异黄酮类成分,如芒柄花素、染料木素等的含量较低^[5-8]。因此本研究在醇溶性浸出物含量测定的基础上,以黄酮类组分为检测指标,开展不同树脂环纹数鸡血藤药材品质的分析与评价,

以为鸡血藤入药标准的性状评判提供科学依据。

1 仪器、试药与材料

1.1 仪器 Waters2695 高效液相色谱仪; Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司); Waters XTerra C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); A560 型紫外-可见分光光度计(翱艺仪器有限公司); XR 205SM-DR 型十万分之一天平(瑞士 Precisa 公司); BP-110S 型万分之一天平(德国 Sartorius 公司); KQ3200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SHZ-D (Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 试药 无水乙醇、甲醇、乙酸乙酯等均为分析纯,水为蒸馏水,乙腈、磷酸、醋酸等为色谱纯。原儿茶酸(批号:110809-200604)、儿茶素(批号:201102)、表儿茶素(批号:110878-200102)、芒柄花素(批号:111703-200501)、染料木素(批号:111704-200501)、大豆苷元(批号:20120426)、毛蕊异黄酮(批号:100618),均供含量测定用,中国药品生物制品检定研究院;异甘草素(纯度≥98%,批号:140716),四川省维克奇生物科技有限公司。

1.3 材料 选取梅州、从化、惠州 3 个不同居群的野生鸡血藤,截取同一植株、同一条藤茎的不同粗度部位(分别具有 1~9 个树脂环的藤茎),趁鲜切片干燥,粉碎,过 40 目筛,置密封袋中保存备用,见表 1。本实验所用材料经广州中医药大学刘军民教授鉴定为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn. 的藤茎。

表 1 鸡血藤样品信息表

Table 1 Sources of *Spatholobi caulis* samples

编号	产地	采样地信息	地理位置	海拔/m	最大树脂环纹数/环
M1-M7	梅州	梅州市梅县雁洋镇	N: 24°5'43"; E: 116°4'18"	490	7
C1-C5	从化	广州市从化流溪河森林公园	N: 23°44'11"; E: 113°47'46"	357	5
L1-L5	惠州	惠州市龙门县龙潭镇	N: 23°41'29"; E: 113°58'27"	226	9

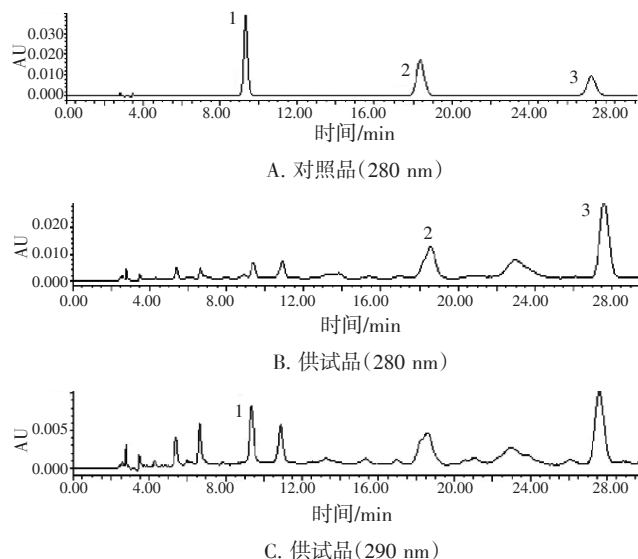
2 方法与结果

2.1 醇溶性浸出物含量 按照《中国药典:一部》(2015 年版)附录 XA 法测定。

2.2 原儿茶酸、儿茶素及表儿茶素的含量测定 参照刘军民等^[9]方法测定。

2.2.1 色谱条件 流动相 A 为 0.1%磷酸,流动相 B 为乙腈,梯度洗脱(0~18 min, 10%B; 18~35 min, 12%B; 35~40 min, 100%B; 40~50 min, 10%B); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 25℃; 检测波长: 290 nm (原儿茶酸)、280 nm (儿茶素、表儿茶素); 进样

量: 20 μL 。对照品及供试品溶液色谱图见图 1。



注: 1. 原儿茶酸; 2. 儿茶素; 3. 表儿茶素

图 1 鸡血藤混合对照品及供试品高效液相色谱(HPLC)图

Figure 1 HPLC chromatograms of the mixed standards (A) and *Spatholobi caulis* (B and C)

2.2.2 对照品溶液的制备 取原儿茶酸、儿茶素和表儿茶素对照品适量, 精密称定, 用 50% 甲醇配制成浓度分别为 0.439、0.472、0.415 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品贮备液。分别精密吸取 100、200、200 μL 对照品贮备液至 2 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 制成混合对照品溶液, 备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取鸡血藤粉末 1.0 g, 精密称定, 加甲醇 60 mL, 静置 30 min 后超声 50 min, 滤过, 水浴蒸干滤液, 残渣用 20 mL 蒸馏水溶解, 转置分液漏斗中; 分别加乙酸乙酯 20 mL, 萃取 3 次, 合并乙酸乙酯液, 减压回收至干; 用少许 50% 甲醇溶解, 定容至 10 mL 量瓶, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1、5、10、15、20、25、30 μL 注入高效液相色谱仪中, 按上述色谱条件分析。以峰面积(Y)为纵坐标, 对照品进样量(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 得到的回归方程及相关系数分别为: $Y=2 \times 10^9 X - 23\ 374$, $r=0.999\ 9$; $Y=6 \times 10^8 X - 18\ 200$, $r=0.999\ 5$; $Y=4 \times 10^8 X - 13\ 246$, $r=0.999\ 3$; 表明原儿茶酸在 0.021 95~0.658 5 μg , 儿茶素在 0.047 2~1.416 μg , 表儿茶素在 0.041 5~1.245 μg 时, 峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件重复进样 6 次, 结果原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素峰面积的 RSD 分别为 0.35%、0.45%、1.83%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取样品粉末 1.0 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 室温放置, 分别于 0、2、4、6、8、13、24 h 进样测定, 结果原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素峰面积的 RSD 分别为 1.52%、1.76%、1.15%, 说明样品在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一样品粉末 6 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 结果显示原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素峰面积的 RSD 分别为 0.91%、0.61%、0.65%, 表明重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量的样品粉末 6 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 分别精密加入原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素对照品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液并测定, 计算加样回收率。结果见表 2。

表 2 鸡血藤原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素加样回收率测定结果($n=6$)

Table 2 The results of protocatechuic acid, catechin, epicatechin recovery experiments($n=6$)

成分	样品 含量/mg	对照品 加入量/mg	测得 量/mg	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD/%
原儿茶酸	0.043 9	0.043 9	0.086 3	96.58	98.00	1.20
	0.042 3	0.043 9	0.084 8	96.81		
	0.043 7	0.043 9	0.086 7	97.95		
	0.042 8	0.043 9	0.086 0	98.41		
	0.042 2	0.043 9	0.086 0	99.77		
	0.042 9	0.043 9	0.086 1	98.41		
儿茶素	0.966 8	0.047 2	1.015 0	102.12	100.18	1.65
	0.965 7	0.047 2	1.011 8	97.67		
	0.960 9	0.047 2	1.007 9	99.58		
	0.966 6	0.047 2	1.014 1	100.64		
	0.977 6	0.047 2	1.025 6	101.69		
	0.964 2	0.047 2	1.011 1	99.36		
表儿茶素	0.481 1	0.041 5	0.522 7	100.24	99.36	1.13
	0.481 9	0.041 5	0.523 0	99.04		
	0.480 5	0.041 5	0.521 3	98.31		
	0.478 4	0.041 5	0.520 4	101.20		
	0.480 8	0.041 5	0.521 7	98.55		
	0.481 7	0.041 5	0.522 7	98.80		

2.2.9 样品含量测定 取鸡血藤粉末 1.0 g, 精密称定, 每批药材平行 3 份, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液并进样测定, 并计算含量。结果见表 3 和图 2。

2.3 芒柄花素、染料木素含量测定 参照梁永枢等^[10]方法进行测定。

2.3.1 色谱条件 Waters Xselect C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% H₃PO₄-乙腈(66:34), 等

表 3 同一植株不同树脂环纹数鸡血藤质量分析测定结果($n=3, \bar{x} \pm s$)

Table 3 The assay results of *Spatholobi caulis* with different resin ring numbers($n=3, \bar{x} \pm s$)

编号	环纹数/环	醇溶性浸出物/%	原儿茶酸/(mg·g ⁻¹)	儿茶素/(mg·g ⁻¹)	表儿茶素/(mg·g ⁻¹)	芒柄花素/(mg·g ⁻¹)	染料木素/(mg·g ⁻¹)
M1	1	13.33 ± 2.63	0.031 ± 1.36	1.35 ± 1.05	4.83 ± 2.67	0.074 ± 0.98	0.059 ± 0.59
M2	2	11.69 ± 4.19	0.052 ± 3.72	5.55 ± 2.86	15.4 ± 2.07	0.035 ± 2.02	0.024 ± 0.97
M3	3	37.17 ± 4.64	0.030 ± 1.57	4.12 ± 0.91	8.82 ± 0.91	0.030 ± 1.35	0.025 ± 1.64
M4	4	33.04 ± 0.54	0.030 ± 1.43	4.15 ± 1.87	7.86 ± 0.93	0.035 ± 0.71	0.026 ± 0.11
M5	5	12.66 ± 2.02	0.027 ± 1.33	4.25 ± 0.86	6.80 ± 0.29	0.024 ± 4.04	0.020 ± 0.66
M6	6	12.91 ± 3.01	0.063 ± 1.89	11.17 ± 0.36	15.02 ± 0.39	0.021 ± 0.02	0.018 ± 0.06
M7	7	18.00 ± 0.61	0.088 ± 3.02	3.05 ± 0.03	3.20 ± 1.84	0.025 ± 1.00	0.016 ± 1.33
C1	1	7.34 ± 3.33	0.021 ± 1.44	0.29 ± 4.61	1.57 ± 4.01	0.012 ± 1.31	0.008 ± 0.38
C2	2	7.19 ± 2.87	0.024 ± 0.93	0.53 ± 2.42	1.06 ± 1.09	0.010 ± 0.27	0.016 ± 0.34
C3	3	14.34 ± 4.31	0.041 ± 1.25	0.88 ± 0.48	2.39 ± 1.56	0.012 ± 2.89	0.015 ± 1.75
C4	4	7.56 ± 4.23	0.034 ± 1.26	0.20 ± 1.47	0.36 ± 2.83	0.014 ± 0.60	0.017 ± 0.26
C5	5	14.90 ± 3.29	0.025 ± 0.24	1.59 ± 1.87	2.31 ± 2.99	0.016 ± 0.36	0.014 ± 0.60
L1	3	17.43 ± 3.06	0.052 ± 1.66	2.05 ± 2.33	2.06 ± 2.07	0.022 ± 1.06	0.027 ± 0.41
L2	4	25.63 ± 4.67	0.039 ± 0.64	1.49 ± 0.43	4.36 ± 0.68	0.047 ± 1.96	0.029 ± 0.09
L3	7	24.13 ± 3.38	0.032 ± 3.30	2.43 ± 1.17	5.23 ± 0.41	0.097 ± 2.93	0.046 ± 0.78
L4	8	23.18 ± 2.92	0.042 ± 1.39	2.89 ± 1.74	7.65 ± 2.38	0.065 ± 0.37	0.040 ± 0.11
L5	9	23.14 ± 0.48	0.060 ± 0.35	2.64 ± 0.45	5.67 ± 1.83	0.061 ± 1.75	0.035 ± 0.53

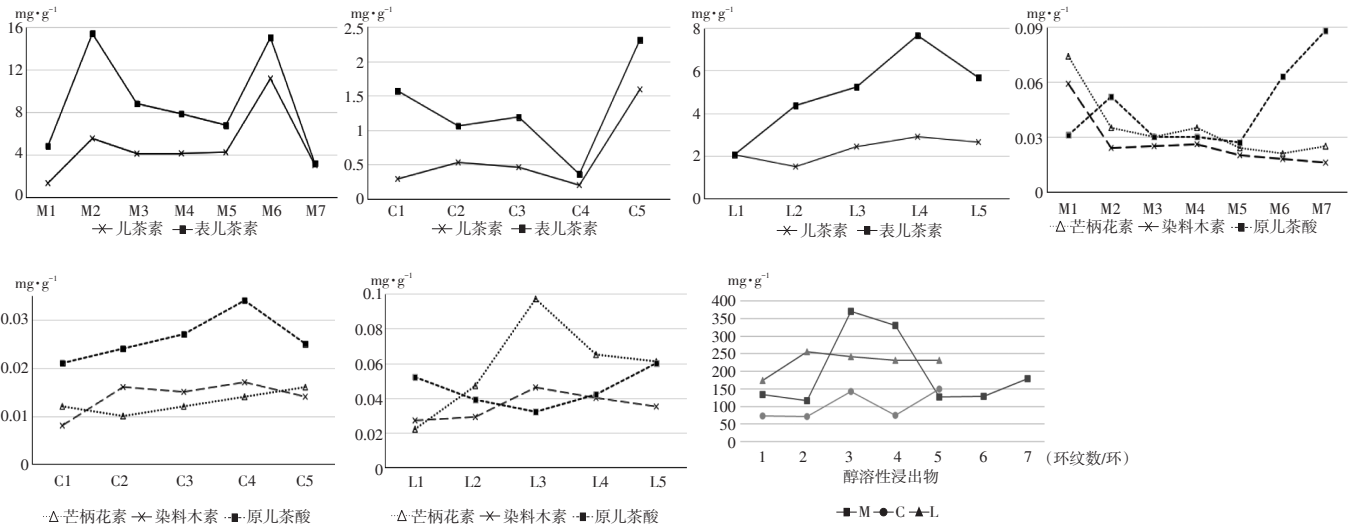


图 2 鸡血藤各组含量折线图

Figure 2 The line graphs of each component's content

度洗脱；检测波长：254 nm；流速：1 mL·min⁻¹；柱温：25 ℃；进样量：20 μL。对照品及供试品溶液色谱图见图 3。

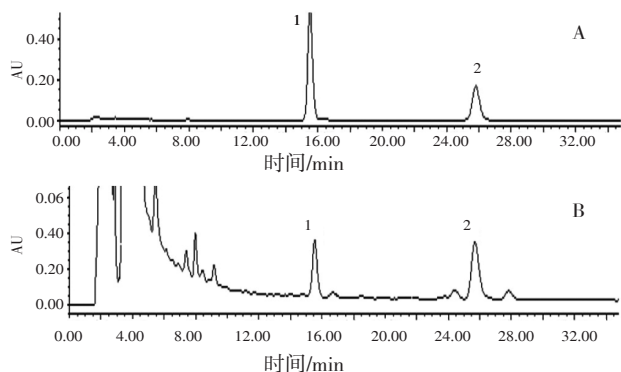
2.3.2 对照品溶液的制备 分别精密称定染料木素和芒柄花素对照品 1.90、1.19 mg，加甲醇定容至 5 mL，制成对照品贮备液。分别精密吸取染料木素、芒柄花素对照品贮备液 1 mL，定容至 5 mL 作为混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取样品粉末约 1 g，精密称定，加 70%乙醇 30 mL 加热回流提取 2 次，每次 15 min，合并 2 次提取液，减压回收溶剂至干，残渣

加甲醇定容于 5 mL 棕色量瓶中，摇匀，作为供试品溶液。

2.3.4 标准曲线的制备 分别吸取“2.3.2”项下各对照品溶液 20 μL 注入液相色谱仪中，测定峰面积积分值。以峰面积(Y)为纵坐标，对照品的进样量(X)为横坐标，绘制标准曲线，得回归方程与相关系数分别为： $Y=8 \times 10^3 X - 192\,794$, $r=0.999\,9$ ； $Y=6 \times 10^3 X - 99\,356$, $r=1$ ；表明染料木素在 0.076~2.28 μg，芒柄花素在 0.047 6~1.42 μg 时，峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.3.5 精密度实验 精密吸取对照品溶液 20 μL，按



注: A. 对照品; B. 供试品。1. 染料木素; 2. 芒柄花素

图3 染料木素、芒柄花素对照品及供试品高效液相色谱(HPLC)图

Figure 3 HPLC chromatograms of the mixed standards (A) and *Spatholobi caulis*(B)

“2.3.1”项下色谱条件重复进样6次,结果染料木素、芒柄花素的RSD分别为1.15%、0.95%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性实验 称取样品粉末1.0 g,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,室温放置,分别于0、2、4、6、8、13、24 h进样测定,结果显示染料木素、芒柄花素的RSD分别为1.02%、0.86%,表明样品在24 h内稳定。

2.3.7 重复性试验 精密称取同一样品6份,每份1.0 g,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,结果显示染料木素、芒柄花素的RSD分别为1.61%、0.76%,表明本方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率实验 取已知含量的样品粉末6份,每份0.5 g,精密称定,分别加入染料木素、芒柄花素的对照品0.012 mg,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液进行测定。结果详见表4。

2.3.9 样品中芒柄花素、染料木素的含量测定 取样品鸡血藤粉末1 g,精密称定,每批药材平行3份,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液并测定,计算含量。结果见表3及图2。

由表3和图2可看出,除了从化居群1、2和4环样品,其他样品的醇溶性浸出物含量均能达到《中国药典》的规定(不低于8%)。梅州和从化居群的醇溶性浸出物都在3环达到峰值,变化趋势在4环之前基本一致,4环之后含量变化趋势不一致;惠州居群由于采样的限制,只采集到3、4、7、8和9环的样品,采样的环数不连续,故无法从1环开始分析其结果,但可看出3环到4环呈增加的趋势,7环以上的样品中醇溶性浸出物的含量基本保持稳定。同一植株具有不同的树脂环纹数的原儿茶酸含量差

表4 鸡血藤染料木素、芒柄花素加样回收率($n=6$)

Table 4 The results of formononetin and genistein recovery experiments($n=6$)

成分	样品含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
染料木素	0.023 1	0.012 0	0.035 3	101.41	100.40	0.93
	0.022 9	0.012 0	0.034 7	99.08		
	0.022 9	0.012 0	0.034 9	99.67		
	0.023 1	0.012 0	0.035 3	101.43		
	0.023 0	0.012 0	0.035 0	100.32		
	0.023 0	0.012 0	0.035 0	100.27		
芒柄花素	0.049 5	0.012 0	0.061 8	102.94	100.24	1.74
	0.047 4	0.012 0	0.059 4	99.73		
	0.049 0	0.012 0	0.061 2	101.78		
	0.047 6	0.012 0	0.059 4	98.40		
	0.048 1	0.012 0	0.060 1	99.60		
	0.047 9	0.012 0	0.059 8	99.00		

异较大,且不同居群样品中的变化趋势不一致。鸡血藤中儿茶素与表儿茶素的含量较高,不同树脂环纹数药材中的含量变化较为明显,二者的变化趋势基本一致,但不同居群样品中的变化趋势则不相同。芒柄花素与染料木素的含量变化差异较小,且具有较为一致的变化趋势(先下降再上升,幅度较小),二者的含量在不同居群来源样品中的变化趋势亦较为一致。

2.4 相关性分析 采用SPSS对环纹数与醇溶性浸出物及5个化学组分含量的数据进行正态性检验,由于芒柄花素数据不符合正态分布,故采用Spearman双变量相关性分析,相关系数见表5。

表5 鸡血藤环纹数和各组分的双变量相关系数

Table 5 Correlation coefficient between any two factors

	环纹数	醇溶性浸出物	原儿茶酸	儿茶素	表儿茶素	染料木素	芒柄花素
环纹数	1.000						
醇溶性浸出物	0.453	1.000					
原儿茶酸	0.464	0.220	1.000				
儿茶素	0.404	0.343	0.399	1.000			
表儿茶素	0.270	0.419	0.319	0.887**	1.000		
染料木素	0.243	0.549*	0.276	0.244	0.440	1.000	
芒柄花素	0.372	0.636**	0.302	0.385	0.572*	0.899**	1.000

注: *表示在0.05水平(双侧)上显著相关; **表示在0.01水平(双侧)上显著相关

由表5可知,环纹数与醇溶性浸出物及5个化学成分的相关性均不显著。其中醇溶性浸出物含量与染料木素含量具有显著相关性,与芒柄花素含量具有极显著相关性;表儿茶素含量与儿茶素含量具有

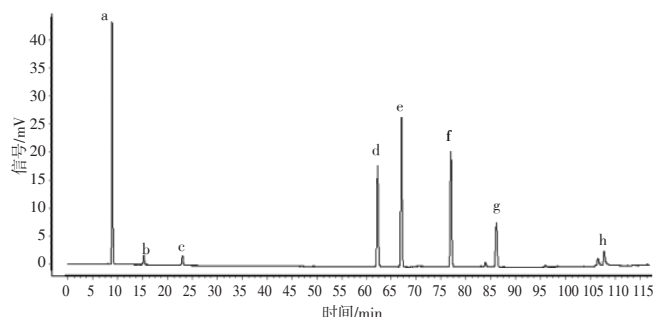
非常显著相关性,与芒柄花素具有显著相关性;染料木素与芒柄花素具有非常显著相关性。

结合含量测定结果与实地调查综合分析发现,鸡血藤环纹数与醇溶性浸出物及 5 个化学成分均无显著相关性,3 环以上的树脂环中,芒柄花素、染料木素在植株中变化较小,而儿茶素、表儿茶素、醇溶性浸出物均较高,故 3 个树脂环以上的鸡血藤质量较好。

2.5 同一条藤茎不同树脂环纹数部位的鸡血藤 HPLC 指纹图谱研究

2.5.1 色谱条件 乙腈(A)~0.1%醋酸水溶液(B),梯度洗脱:0~25 min, 10%~15%A; 25~55 min, 15%~25%A; 55~95 min, 25%~45%A; 95~120 min, 45%~70%A; 120~130 min, 70%~90%A; 130~140 min, 90%~100%A。柱温:25℃;进样量:10 μL;流速:1 mL·min⁻¹;运行时间 140 min;检测波长:260 nm。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品原儿茶酸 2.99 mg, 芒柄花素 2.10 mg, 大豆苷元 2.25 mg, 儿茶素 2.24 mg, 染料木素 2.46 mg, 毛蕊异黄酮 2.68 mg, 表儿茶素 2.37 mg, 异甘草素 1.09 mg, 分别用甲醇定容于 5 mL 量瓶中,摇匀,作为贮备液。分别取原儿茶酸、芒柄花素、大豆苷元、儿茶素、染料木素、毛蕊异黄酮、表儿茶素及异甘草素对照品贮备液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中混合,用甲醇定容,摇匀,作为混合对照品溶液。对照品色谱图见图 4。



注: a. 原儿茶酸; b. 儿茶素; c. 表儿茶素; d. 大豆苷元; e. 毛蕊异黄酮; f. 染料木素; g. 芒柄花素; h. 异甘草素

图 4 混合对照品的高效液相色谱(HPLC)图

Figure 4 HPLC fingerprints of the mixed reference substances

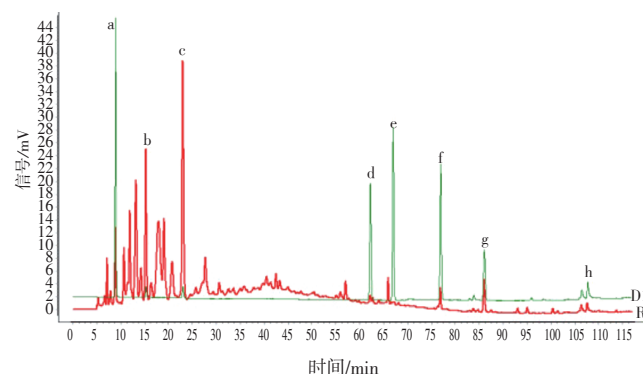
2.5.3 供试品溶液的制备 取鸡血藤粉末(过 40 目筛)1.0 g,精密称定,加甲醇 60 mL,静置 30 min 后超声 50 min;滤过,蒸干,残渣用 20 mL 蒸馏水溶解,转置分液漏斗中,分别加乙酸乙酯 20 mL,萃取 3 次;合并乙酸乙酯液,减压回收至干。再加少许 50% 甲醇溶解,定容至 10 mL 量瓶,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.5.4 精密度试验 精密吸取 10 μL 同一份鸡血藤药材供试品溶液,连续进样 5 次,各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别小于 5% 和 0.6%,表明仪器精密度良好。

2.5.5 重复性试验 精密称取鸡血藤药材粉末 5 份,制备供试品溶液。分别进样 10 μL,测得供试品溶液各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别小于 5% 和 0.6%,表明重复性良好。

2.5.6 稳定性试验 精密吸取同一份鸡血藤药材,制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、24 h 时进样 10 μL,测得供试品溶液各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别小于 5% 和 1%,表明样品溶液在 24 h 的稳定。

2.5.7 共有模式的建立 将供试品溶液按选定的色谱条件测定,得到 17 个样品的图谱,根据国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”(2010 年版),以编号 S1 为参照图谱,生成对照图谱(见图 5)及样品叠加图谱(见图 6)。



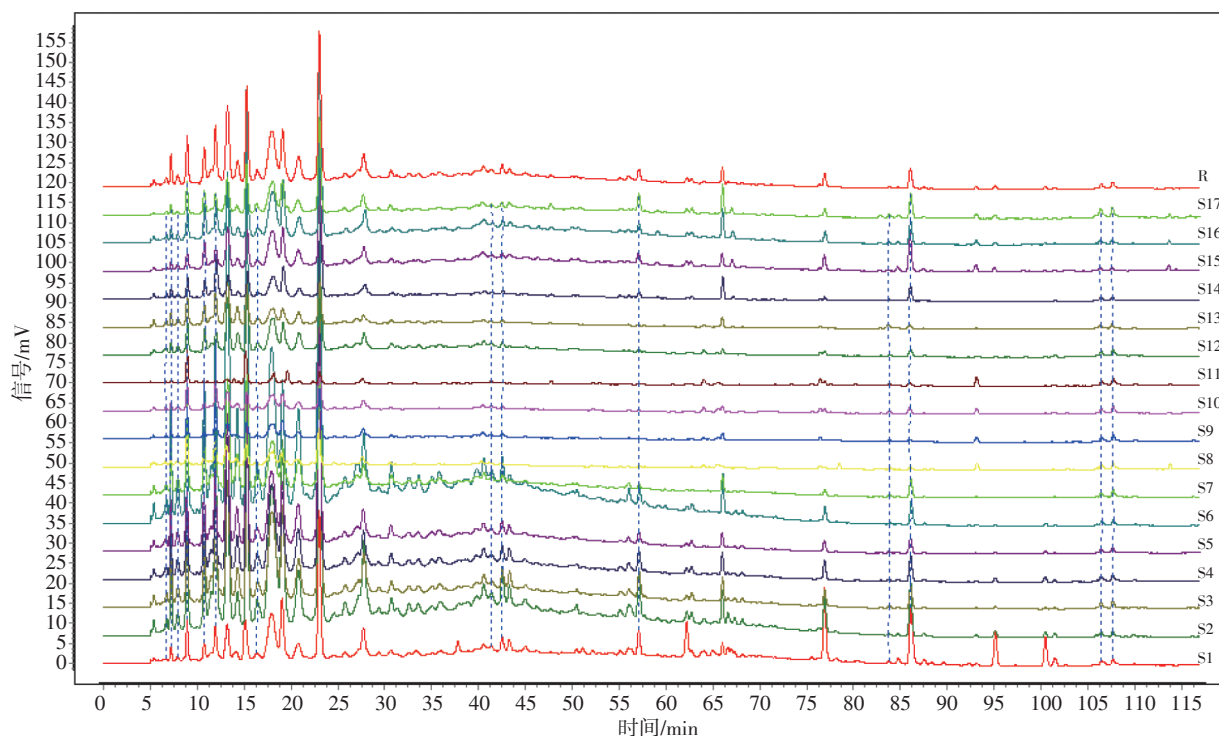
注: a. 原儿茶酸; b. 儿茶素; c. 表儿茶素; d. 大豆苷元; e. 毛蕊异黄酮; f. 染料木素; g. 异甘草素; h. 芒柄花素。D1 为混合对照品图谱; R 为供试品共有模式图谱

图 5 鸡血藤供试品的 HPLC 对照指纹图谱

Figure 5 HPLC fingerprints of the mixed reference substances and samples of *Spatholobi caulis*

2.5.8 共有峰的标定 按选定的色谱条件分别将对照品及供试品进样分析,记录色谱图。采用国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”(2010 年版)处理图谱,得供试品溶液共有模式图,并计算同一植株不同环纹数样品间相似度(见表 6~表 8),其中共有模式上保留时间及色谱峰相对稳定的峰中,原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、大豆苷元、染料木素、异甘草素、芒柄花素可明确被指认出。

2.5.9 不同环纹数藤茎部位的鸡血藤相似度评价 由图 6 及表 6~表 8 可以看出,不同环纹数藤茎部位的鸡血藤相似度均较高,其中具 1 个树脂环的样品与其他样品间相似度相对较低,除梅州具 1 个树脂环



注: S1~S7 为样品 M1~M7; S8~S12 为样品 C1~C7; S13~S17 为样品 L1~L5

图 6 鸡血藤同一条藤茎的不同树脂环纹数部位的 HPLC 指纹图谱共有模式叠加图

Figure 6 Overlay chart of fingerprints common models of the same vine with different resin ring numbers

表 6 鸡血藤同一条藤茎的不同环纹数部位 HPLC 指纹图谱相似度结果(梅州)

Table 6 Similarity of HPLC fingerprints with different resin ring numbers within a plant(Mei Zhou)

样品	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
M1	1						
M2	0.856	1					
M3	0.827	0.975	1				
M4	0.818	0.956	0.991	1			
M5	0.855	0.848	0.872	0.876	1		
M6	0.756	0.932	0.973	0.988	0.85	1	
M7	0.727	0.879	0.946	0.968	0.843	0.973	1
R	0.853	0.973	0.992	0.994	0.907	0.981	0.954

表 7 鸡血藤同一条藤茎的不同环纹数部位 HPLC 指纹图谱相似度结果(从化)

Table 7 Similarity of HPLC fingerprints with different resin ring numbers within a plant(Chong Hua)

样品	C1	C2	C3	C4	C5
C1	1				
C2	0.878	1			
C3	0.912	0.960	1		
C4	0.910	0.964	0.970	1	
C5	0.860	0.858	0.894	0.935	1
R	0.934	0.958	0.975	0.990	0.960

表 8 鸡血藤同一条藤茎的不同环纹数部位 HPLC 指纹图谱相似度结果(惠州)

Table 8 Similarity of HPLC fingerprints with different resin ring numbers within a plant(Hui Zhou)

样品	L1	L2	L3	L4	L5
L1	1				
L2	0.896	1			
L3	0.878	0.947	1		
L4	0.881	0.973	0.985	1	
L5	0.890	0.953	0.970	0.973	1
R	0.923	0.978	0.986	0.992	0.985

的样品相似度为 0.853, 其它同一植株不同树脂环纹数样品均在 0.9 以上, 表明同一植株不同树脂环纹数样品所含化学组分相近。

3 讨论

由图 2 可以看出, 梅州居群鸡血藤样品染料木素、芒柄花素在 1 环到 2 环样品中含量大幅度下降, 之后含量变化平缓(7 环之后有轻微的上升趋势), 出现这一现象的原因可能是染料木素、芒柄花素为植物雌激素类成分^[11], 它们可能在植物幼苗期含量较高, 在植物发育至一定程度时不再大量累积。而从化居群样品并没有这个趋势, 可能的原因为采

样时, 梅州居群鸡血藤 1、2 环药材均粗于从化流溪河居群样品, 其树脂环较宽, 新鲜树脂的颜色较后者更浓, 而从化居群的鸡血藤 1、2 环样品栓皮部还带有明显的绿色, 树脂环较细; 梅州居群与从化、惠州 2 个居群鸡血藤各化学成分变化趋势有着较大的差异, 可能原因是环数原因, 惠州居群样品偏心性环纹数相对较多, 且新鲜时树脂颜色鲜红。因此, 笔者认为, 不同居群来源鸡血藤样品中次生代谢物质动态变化特征的不一致性, 可能与其植株采集时的生长状况有关, 尤其是与藤茎断面的树脂环纹的形成有关, 如木质部与韧皮部之间的间距大小、树脂的多少与色泽的深浅等, 而不同居群样品的上述性状特征均具有一定的差异性。由图 6 可以看出, 同一居群不同环纹数的鸡血藤样品在成分的种类上并没有太大的变化, 主要是含量的变化。现有大量研究表明, 影响植株生长状况及体内次生代谢物质积累变化的因素有可能是多种因子综合作用或某一个或者几个因子发挥着主导作用, 如外环境中的气候条件(水分、光照强度、温湿度等)、地形地势及土壤环境等和内在因素(遗传因子等), 因此, 很有必要进一步对鸡血藤药材品质形成的影响因素进行深入系统的研究。

针对选择具有几个树脂环纹数的鸡血藤藤茎入药的问题, 本研究选取同一植株同一条藤茎具有不同环纹数部位的样品进行了药材质量的综合分析比较, 以探讨树脂环纹数对鸡血藤质量的影响。含量测定结果显示, 鸡血藤中醇溶性浸出物、指标性成分儿茶素、表儿茶素、原儿茶酸、芒柄花素及染料木素的含量在同一植株不同树脂环纹数样品中的变化趋势各不相同, 且不同植株中的变化趋势也不相同; 各测定指标的含量在不同树脂环纹样品中的变化较为波动, 3~5 环的样品中醇溶性浸出物均高于或明显高于具 1 个树脂环纹的样品, 儿茶素及表儿茶素的含量在不同环纹数样品中的波动较大, 但以 1 个树脂环纹的为最低。HPLC 指纹图谱研究结果显示, 1 个树脂环纹的样品与 2 环以上的样品的相似度较低, 表明鸡血藤药材以 3 环及以上为宜。

Spearman 相关性分析表明鸡血藤断面的树脂环纹数与各指标成分均无明显的相关性, 故鸡血藤环纹数不能单纯作为评价其药材质量好坏的标准。据本实验结果, 认为现行《中国药典》鸡血藤项下性状鉴别中未提及树脂环纹数是合理的, 建议结合醇

溶性浸出物及指标性成分(儿茶素、表儿茶素)的含量来综合评判。而梅余琪等^[12]采用主成分分析方法对韧皮部不同环纹数的鸡血藤药材进行评价, 发现韧皮部环纹数与多指标成分含量具有一定正相关性, 与本实验结果有所不同, 可能与所选择的化学成分的种类及分析方法有关。而鸡血藤断面的树脂环纹数与其化学成分是否相关, 尚有待进一步分析研究。

由于鸡血藤为多年生植物, 其终年不落叶, 藤茎的粗细与其断面含树脂的偏心性环纹数不具一定的相关性, 从藤茎的性状特征无法判断其生长的年限^[13], 故同一居群的不同植株鸡血藤的生长年限难以准确判断。且生长年限不同, 次生代谢产物的累积也不同^[13], 故本实验选取鸡血藤同一植株作为实验样本。但本实验由于鸡血藤采样的居群的数量较少, 后续应采集更多的居群样品进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 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, 2015: 194.
- [2] 梁宇, 韦松基, 林启云. 鸡血藤总黄酮对血虚小鼠抗贫血作用及机理研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 362-363.
- [3] 王成海. Shln-EC6/miR-451 对小鼠红细胞脱核病理生理机制的影响及鸡血藤总黄酮干预作用的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2015.
- [4] 尹小明, 赵诗云, 饶丽华, 等. 鸡血藤不同成分抗 AA 诱导的血小板聚集作用的实验研究[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(4): 422-424.
- [5] 崔艳君, 刘屏, 陈若芸. 鸡血藤的化学成分研究[J]. 药学报, 2002, 37(10): 784-787.
- [6] 郑岩, 刘桦, 白焱晶, 等. 鸡血藤黄酮类化合物的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2): 152-154.
- [7] 应军, 肖百全, 杨威, 等. 鸡血藤提取物对环磷酰胺致白细胞低下大鼠的影响[J]. 中草药, 2011, 42(4): 752-755.
- [8] 符影, 程悦, 陈建萍, 等. 鸡血藤化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(6): 1229-1234.
- [9] 刘军民, 安冉, 翟明, 等. 鸡血藤商品药材质量评析[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(5): 573-585.
- [10] 梁永枢, 安冉, 刘军民, 等. 不同产地鸡血藤药材中染料木素及芒柄花素的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1655-1657.
- [11] 付开聪, 许明, 杨礼攀. 氮、磷、钾对嘉兰植株生长和秋水仙碱含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(3): 144-145.
- [12] 梅余琪, 魏丽芳, 邹立思, 等. 鸡血藤韧皮部环数与多指标成分的相关性分析[J]. 分析测试学报, 2020, 39(8): 941-949.
- [13] 安冉. 鸡血藤规范化种植(GAP)研究基地药材质量的分析与评价[D]. 广州: 广州中医药大学, 2011.

(编辑: 梁进权)