

12 种骨碎补黄酮类成分定性定量分析

周铜水 林东武 李瑞洲¹ 周荣汉

(中国药科大学中药资源学研究室, 南京, 210038;¹ 安徽省医药学校, 合肥, 230031)

摘要 对 12 种骨碎补的黄酮类成分进行了定性定量分析, 测定了紫外光谱, 进行了 TLC 分析比较, 并测定了总黄酮含量, 结果表明不同来源的骨碎补, 所含化学成分在质上和量上均有较大差别, 应区别对待, 合理使用。

关键词 骨碎补; 黄酮类; 定性分析; 定量分析

骨碎补 (*Rhizoma Drynariae*) 为较常用中药, 有补肾强骨、续伤止痛等功效, 用于肾虚腰痛、耳鸣耳聋、筋骨伤折等症的治疗^[1]。现代药理实验表明骨碎补可减轻卡那霉素对耳蜗的毒性作用^[2]; 对心肌细胞有起搏作用, 并能增强博动频率^[3]; 对骨关节软骨有刺激细胞代偿性增生的作用, 并能部分改善由于力学应力线改变造成的关节软骨的退行性变, 从而降低骨关节病变率^[4]。据文献报道^[3,5], 其活性成分为柚皮甙 (naringin) 等二氢黄酮类化合物。关于其植物来源, 中国药典收载水龙骨科 (现槲蕨科) 槲蕨 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm. 和中华槲蕨 *D. baronii* (Christ) Diels (= *D. sinica* Diels) 二种, 但根据调查研究发现, 目前全国各地市售骨碎补来源复杂, 共有 12 种之多^[6]。有关它们

的理化分析和品质评价问题迄今未见报道。为此, 作者对 12 种骨碎补类生药的黄酮类成分进行了定性定量分析, 为品质评价提供依据。

1 仪器与试剂

岛津 UV-250; M-750A 型多功能紫外分光光度计。

标准品: 柚皮甙 (naringin), 芒果甙 (mangiferin), 异芒果甙 (isomangiferin) (均为本室分离制备)。

2 方法与结果

样品制备: 12 种骨碎补名称及来源见表 1。各样品粗粉于 80℃ 干燥 8 h, 精密称取 1.0 g, 置索氏提取器中, 用 95% 乙醇 80

Tab 1. Origin and name of materials

No.	Chinese name	Scientific name	Locality	Date
1.	槲蕨	<i>Drynaria fortunei</i> (Kunze) J. Sm.	安徽石台	1987. 8.
2.	中华槲蕨	<i>D. sinica</i> Diels	甘肃天水	1988. 10.
3.	团叶槲蕨	<i>D. bonii</i> Christ	广西忻城	1987. 10.
4.	光叶槲蕨	<i>D. propinqua</i> (Wall. ex Mett.) Bedd.	云南禄丰	1987. 11.
5.	川滇槲蕨	<i>D. delavayi</i> Christ	云南丽江	1987. 11.
6.	栎叶槲蕨	<i>D. queriefolia</i> (L.) J. Sm.	海南三亚	1987. 10.
7.	崖姜蕨	<i>Pseudodrynaria coronans</i> (Wall.) Ching	海南乐东	1987. 10.
8.	大叶骨碎补	<i>Davallia formosana</i> Hay.	海南乐东	1987. 10.
9.	骨碎补	<i>D. mariesii</i> Moore ex Bak.	江苏连云港	1989. 10.
10.	圆盖阴石蕨	<i>Humata tyermannii</i> Moore	云南西双版纳	1987. 10.
11.	鳞轴小膜盖蕨	<i>Araiostegia perdurans</i> (Christ) Cop.	云南昆明	1987. 11.
12.	光叶瘤蕨	<i>Phymatodes lucida</i> (Roxb.) Ching	云南西双版纳	1987. 10.

Tab 2. Qualitative and quantitative analysis results

No.	Name	UV-Spectra(nm)			TLC Analysis *						Total flavonoids		
		Band I, II	S ₁	S ₂	S ₃	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	Content, %	RSD, %	
1.	槲蕨	281.2	—	+	—	—	+	+	—	—	—	1.44	1.14
2.	中华槲蕨	281.5	—	—	—	—	+	+	+	+	—	4.78	1.23
3.	团叶槲蕨	280.5	—	+	—	—	+	+	+	—	—	0.85	1.41
4.	光叶槲蕨	275.1	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1.00	0.97
5.	川滇槲蕨	281.1	—	—	—	—	+	—	+	—	—	2.30	0.89
6.	栎叶槲蕨	281.0	—	+	—	—	+	+	—	+	—	0.38	1.15
7.	崖姜蕨	281.9	—	+	—	—	+	+	+	+	—	0.95	1.50
8.	大叶骨碎补	281.5	—	—	+	+	—	—	—	—	+	0.34	1.63
9.	骨碎补	281.7	—	—	+	+	—	—	—	—	+	2.23	1.70
10.	圆盖阴石蕨	281.3	—	—	+	+	—	+	—	—	—	1.60	0.97
11.	鳞轴小膜盖蕨	280.5	—	—	+	+	—	+	—	—	—	2.06	0.98
12.	光叶瘤蕨	289.1	322.9	—	—	—	—	+	+	—	+	4.43	1.45

Note: X₁₋₆ were unknown constituents. X₁: R_f=0.41, X₂: R_f=0.65, both with blue purple fluorescence; X₃: R_f=0.25, X₄: R_f=0.20, X₅: R_f=0.12, each with yellow green fluorescence; X₆: R_f=0.5, blue purple fluorescence

ml 回流提取 12 h(直至提取液检测无黄酮反应), 回收乙醇至干, 浸膏以甲醇溶解、滤过后定容到 100 ml 备用。

2.1 紫外光谱测定

取样品液 1 ml 以甲醇稀释 10 倍, 用岛津 UV250 测定紫外光谱, 结果如表 2 及图 1。

2.2 TLC 比较分析

薄层条件: 自制硅胶 G 薄层板; 展开剂: 苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(20:20:15:2); 显色剂: 1% AlCl₃ 乙醇液。展距 11 cm。标准品:S₁: 柚皮甙(naringin) R_f=0.50, 荧光棕红色, 喷 AlCl₃ 后呈黄绿色; S₂: 芒果甙(mangiferin) R_f=0.32, 荧光黄绿色, 喷 AlCl₃ 后加深; S₃: 异芒果甙(isomangiferin) R_f=0.44, 荧光黄绿色, 喷 AlCl₃ 后加深。结果见表 2。

2.3 总黄酮含量测定

2.3.1 紫外分光光度法 12 种骨碎补生药的紫外光谱特征如表 2, 它们的最大吸收均位于 281 nm 左右, 与柚皮甙的最大吸收 283 nm 基本一致, 为二氢黄酮类化合物的特征吸收, 因此可用紫外分光光度法, 以柚皮甙为标准品, 283 nm 为测定波长, 测定总黄酮的含量。^{21994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House All rights reserved http://v}

2.3.2 标准曲线的绘制 精密称取柚皮甙标准品 5.15 mg, 置 50 ml 量瓶中, 再分别吸取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 ml 于 10 ml 量瓶中, 定容至刻度, 以甲醇为空白, 在 283 nm 处测吸收度, 计算回归方程: Y=0.03466X + 0.04247, r=0.9994, 线性范围 0~30.0 μg/ml。

2.3.3 回收率试验 精称干燥后的槲蕨样品各 1.0 g, 于制备前按表 3 所示的量分别准确加入一定梯度体积的标准品溶液, 然后按上述样品制备法制备分析样品液; 精取各样品液 1 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 用甲醇稀释到刻度, 于 283 nm 处测定吸收度, 计算平均回收率和变异系数, 结果如表 3。

2.3.4 样品测定 从各样品液中分别吸取 1 ml 样品于 10 ml 量瓶中, 以甲醇定容至刻度, 摆匀。以甲醇为空白在 283 nm 处测定吸收度, 按回归方程计算总黄酮含量, 同法测定 5 次, 计算平均值及变异系数, 结果见表 2。

3 讨论

1) 来源于槲蕨科的骨碎补(1-7)和来源于骨碎补科的骨碎补(8-11)具有相似的紫外吸收特征, 即峰形单一, 最大吸收出现在 275 nm 左右。

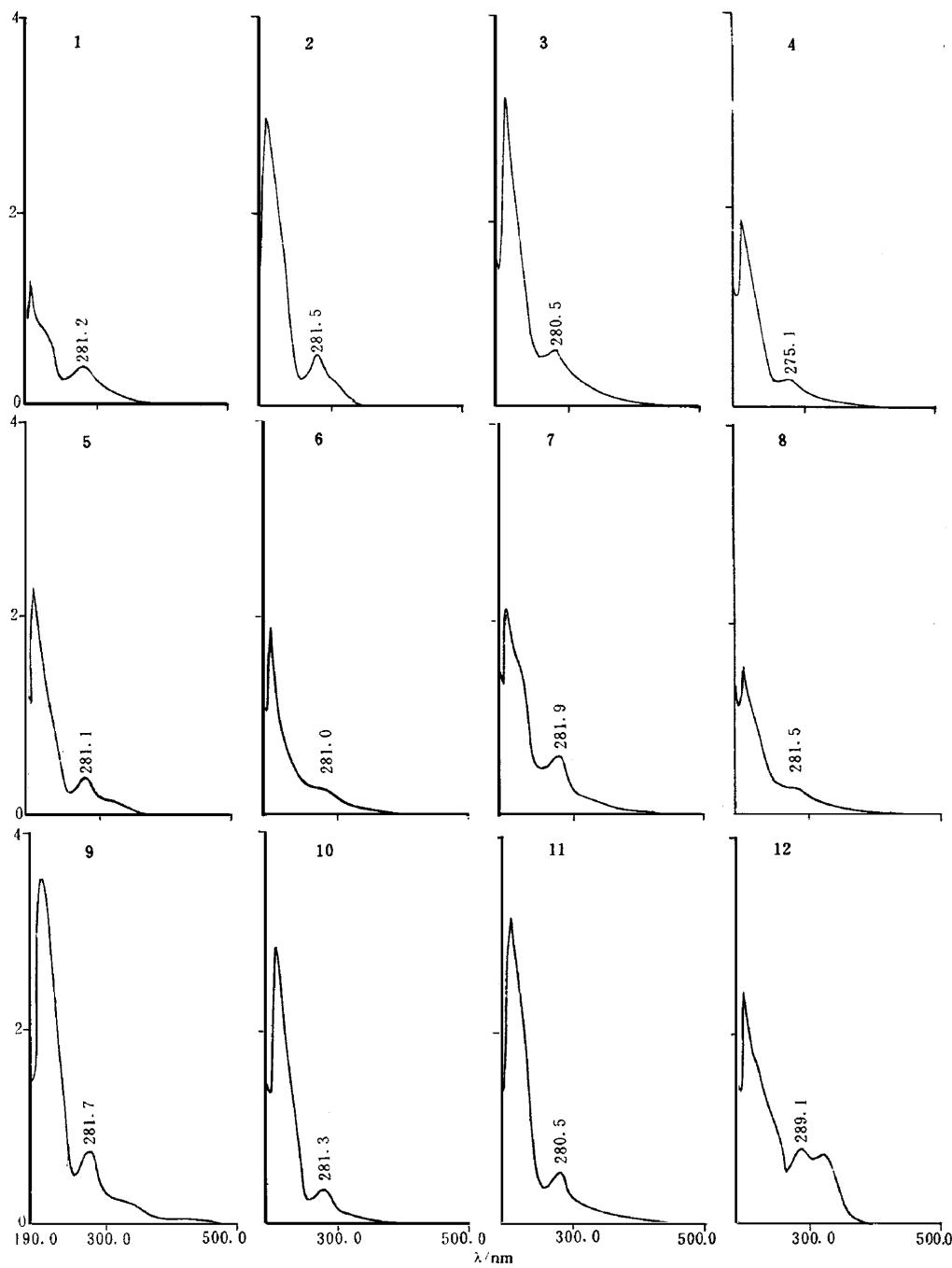


Fig 1. Ultraviolet absorption spectra of Gusuibu(alcohol-extract)

1. 槲蕨 *Drynaria fortunei*; 2. 中华槲蕨 *D. sinica*; 3. 团叶槲蕨 *D. bonii*; 4. 光叶槲蕨 *D. propinqua*; 5. 川滇槲蕨 *D. delavayi*; 6. 栓叶槲蕨 *D. quercifolia*; 7. 崖姜蕨 *Pseudodrynaria coronans*; 8. 大叶骨碎补 *Davallia formosana*; 9. 骨碎补 *D. mariesii*; 10. 圆盖阴石蕨 *Humata tyermannii*; 11. 鳞轴小膜盖蕨 *Araiostegia perdurans*; 12. 光叶瘤蕨 *Phymatodes lucida*;

~282 nm, 300 nm 以上无吸收。来源于水龙骨科的光叶瘤蕨(12)具两个吸收峰, 最大吸收分别位于 289 nm 和 322 nm, 可与其它骨碎补相区别。

Tab. 3 Recovery of standard

Added, μg	Found, μg	Recovery, %	Average, %	RSD, %
51.5	50.99	99.0		
103.0	98.78	95.9	98.4	1.7
206.0	204.56	99.3		
412.0	408.7	99.2		
618.0	609.35	98.6		

2) 从 TLC 分析结果可以看出, 不同来源的骨碎补组成成分有所不同: 槲蕨和崖姜蕨含大量的柚皮甙, 团叶槲蕨和栎叶槲蕨仅含少量, 余均未检测出; 来源于骨碎补科大叶骨碎补、骨碎补、圆盖阴石蕨和鳞轴小膜盖蕨 4 种均含芒果甙和异芒果甙, 其它种不含这两种成分; 中华槲蕨的主成分不同于槲蕨, 有待分离鉴定。

3) 来源不同的骨碎补, 其总黄酮含量差别很大。中华槲蕨、光叶瘤蕨含量最高(>4%); 槲蕨、川滇槲蕨、海州骨碎补、鳞轴小膜盖蕨次之(1~3%); 栎叶槲蕨、团叶槲蕨、大叶骨碎补最低(<1%)。

4) 本文利用紫外分光光度法测得的槲

蕨根茎总黄酮含量为 1.44%, 与采用三氯化铝比色法测得的结果 1.42% 基本一致, 说明两种方法都是可靠的。紫外分光光度法操作比较简单, 而且由于不同来源的骨碎补所含黄酮类成分不尽相同, 很难找到统一的显色法进行测定, 因此采用紫外分光光度法比较切实可行。

5) 实验结果表明, 不同来源的骨碎补, 其黄酮类成分的组成和含量均有较大差别, 品质不同, 活性和疗效也有所差异, 应区别对待, 合理使用。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海:上海人民出版社. 1979: 1658~1660
- 2 广西医学院耳鼻喉科. 骨碎补预防卡那霉素中毒性耳聋实验研究. 新医学, 1977, 8(4-5):168
- 3 王维信, 王敖格. 骨碎补双氢黄酮甙对体外培养心肌细胞的影响及其作用机理分析. 中国药学会庆祝建会 80 周年学术会议论文集, 1987, 06-K-2
- 4 赵湘洪, 陈宝兴, 丁继华. 骨碎补对实验性骨性关节炎的治疗作用. 中药通报, 1987, 12(10):41
- 5 周铜水, 周荣汉. 骨碎补对大鼠实验性骨损伤愈合的影响. 中草药, 1994, 25(5): 249
- 6 周铜水, 周荣汉. 骨碎补类生药原植物调查与分类鉴定研究. 中国药科大学学报, 1993, 24(2):70

Identification and Determination of Flavonoids in Twelve Types of Gusuibu(*Rhizoma Drynariae*)

Zhou Tongshui, Lin Dongwu, Li Ruizhou¹ and Zhou Ronghan

Research Laboratory of Resource Science of Chinese Medicinal Materials, China Pharmaceutical University, Nanjing, 210038; Anhui Medicinal Secondary School, Hefei, 230031

Abstract The identification and determination of flavonoids in twelve types of Gusuibu(*Rhizoma Drynariae*) was carried out by UV-spectrum measurement, TLC analysis and total flavonoid determination. The results have shown that the chemical qualities and quantities varied greatly among the differently originated Gusuibu. Therefore they should be in varided way treated and properly utilized.

Key words Gusuibu; Flavonoids; Identification; Determination