

## 艾粉质量标准初步研究

王凯<sup>1,2</sup>, 胡璇<sup>1,2</sup>, 庞玉新<sup>1,2\*</sup>, 吴丽芬<sup>1,2</sup> (1. 中国热带农业科学院, 热带作物品种资源研究所, 农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室, 海南儋州 571737; 2. 海南省艾纳香工程研究中心, 海南儋州 571737)

**摘要** [目的]初步研究不同批次的艾纳香提取物艾粉质量标准。[方法]取来自贵州不同地区 49 批艾粉(艾纳香提取物)为研究材料, 对其外观形状进行观察描述, 测定其溶解性、含水量等物理特性, 采用薄层层析法(TLC)进行定性分析以及 GC 指纹图谱进行相似度评价。[结果]艾粉为白色、块状、盐粒状或颗粒状结晶, 手捻不易碎, 具清香气, 味辛、凉, 具挥发性, 几乎不溶于水, 易溶于乙醇、乙醚、氯仿, 艾粉含水量不高于 24% 为宜。艾粉样品中 *l*-龙脑 TLC 斑点清晰,  $\beta$ -石竹烯、花椒油素显相同颜色的斑点或没有斑点, 分离良好。GC 指纹图谱仅得到 2 个共有峰, 确认为有效成分 *l*-龙脑和樟脑, 相似度基本都在 0.9 以上。[结论]该研究结果为艾粉在生产过程中的质量控制提供参考依据, 同时进一步促进高质量天然冰片的生产。

**关键词** 艾粉; 薄层色谱; GC 指纹图谱; 质量控制

中图分类号 R284 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)25-0128-03

## Preliminary Development of Quality Standard for Aifen

WANG Kai<sup>1,2</sup>, HU Xuan<sup>1,2</sup>, PANG Yu-xin<sup>1,2\*</sup> et al (1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Danzhou, Hainan 571737; 2. Hainan Provincial Engineering Research Center for *Blumea Balsamifera*, Danzhou, Hainan 571737)

**Abstract** [Objective] To make a preliminary development of quality standard for Aifen [the extract powder of *Blumea Balsamifera* (L.) DC.]. [Method] Forty-nine batches of Aifen collected from different regions in Guizhou were used as research materials for this study. The appearance traits was observed and described, the solubility and water content were determined. TLC was used for qualitative analysis and similarity evaluation was obtained by GC fingerprint. [Result] Aifen was white, blocky, salt granular and granulate. It was unbreakable by hand twist. Aifen was volatile with fragrant smell and tasted sheen and cool. It was almost insoluble in water, but easily dissolved in trichloromethane, ethanol, diethyl ether. Its water content should be no more than 24%. TLC spots of *l*-borneol were clear in those Aifen samples.  $\beta$ -caryophyllene and xanthoxylin appeared the same color spots or no spots. The three components all separated well. Only two common peaks were collected in the fingerprint and confirmed to be *l*-borneol and camphor. The similarities between the entire chromatographic profiles of Aifen samples were basically all over 0.90. [Conclusion] This study will provide reference and basis for the quality control of Aifen in the production process. Meanwhile, it will further promote the production of high-quality natural borneol.

**Key words** Aifen; Thin-layer chromatography (TLC); GC fingerprint; Quality control

艾纳香为菊科植物艾纳香 [*Blumea Balsamifera* (L.) DC.] 的新鲜或干燥地上部分, 是黎、苗族等少数民族重要的民族药, 俗称娜龙(黎药名)、大风艾、大叶艾, 具有祛风除湿、消肿散瘀、活血解毒等功效<sup>[1-2]</sup>。艾粉是艾纳香的叶和枝经水蒸气蒸馏提炼出来的粗加工品, 作为原料前体物可进一步加工得到艾片<sup>[3]</sup>。艾片作为天然冰片的来源之一, 被广泛应用于咽立爽、八宝惊风散、金骨莲胶囊、心胃止痛胶囊等中成药中<sup>[4]</sup>, 其开窍醒神、清热止痛的功效已经得到广大消费者的认可。随着人们生活水平的提高, 返璞归真的意识与日俱增, 以天然冰片为原料的药品、日化用品越来越受到青睐<sup>[5]</sup>。

艾片的质量直接取决于艾粉的质量, 艾粉的主要成分是 *l*-龙脑, 目前还缺少关于艾粉质量控制的相关研究报道, 大多数文献都是对艾纳香以及其终产物艾片进行研究<sup>[6-7]</sup>。笔者取来自贵州不同地区 49 批艾粉(艾纳香提取物)为研究材料, 对其外观形状进行观察, 物理性状进行测定, 并对其有效成分进行定性分析, 对艾粉质量标准进行初步研究, 为艾粉在生产应用中的质量控制提供参考依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

**1.1.1 样品。**艾粉主产区为贵州, 该研究的艾粉样品均为贵州不同产地收集(2013、2014 年秋季收集), 均保存于低温干燥中。经中国热带农业科学院庞玉新研究员鉴定为菊科植物艾纳香 [*Blumea balsamifera* (L.) DC.] 经水蒸气蒸馏提取而得的初提物艾粉。

**1.1.2 仪器。**电子天平(Sartorius 公司); Agilent 7890A 气相色谱仪(配有氢火焰离子化检测器 FID, 载气高纯氮气, 助燃气为空气, 燃气为氢气), HP-5 毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 0.25  $\mu$ m), OpenLAB CDS 工作站, G4513A 自动进样器。

**1.1.3 试剂。**对照品樟脑(纯度  $\geq 98\%$ , 批号 21506, 购自 Aladdin 公司), *l*-龙脑(纯度  $\geq 98\%$ , 批号 10147015, 购自 Alfa Aesar 公司),  $\beta$ -石竹烯(纯度  $\geq 98\%$ , 批号 111819-201001, 购自中国食品药品检定研究院), 花椒油素(纯度  $\geq 98\%$ , 批号 D2683, 购自 TCI 公司), 乙酸乙酯为色谱纯(Fisher Scientific 公司), 其他试剂均为分析纯。

**1.1.4 处理软件。**指纹图谱数据处理软件为《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)。

## 1.2 方法

## 1.2.1 理化性质。

**1.2.1.1 溶解性测定方法。**参照《中国药典》<sup>[8]</sup>2015 版一部凡例中“性状”项下对溶解度的测定法。

**基金项目** 基本科研业务费专项(1630032017071); 科研院所技术开发研究专项(41101224)。

**作者简介** 王凯(1986—), 男, 山西永济人, 实习研究员, 硕士, 从事南药资源利用与开发研究。\* 通讯作者, 研究员, 博士, 从事南药资源研究与开发利用研究。

**收稿日期** 2017-06-23

**1.2.1.2 水分测定。**参照《中国药典》<sup>[8]</sup>2015 版四部通则水分测定第四法。

**1.2.2 TCL 鉴别。**

**1.2.2.1 对照品溶液的制备。**取对照品 *l*-龙脑、 $\beta$ -石竹烯、花椒油素适量,分别加乙醇制成 3、2、1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。

**1.2.2.2 供试品溶液的制备。**取艾粉样品 10.0 mg,加乙醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。

**1.2.2.3 不同溶剂展开。**参照《中国药典》<sup>[8]</sup>2015 版药典薄层色谱法,吸取上述对照品和供试品溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,分别以不同展开剂系统进行展开,取出,晾干,喷以 1% 香草醛硫酸溶液,在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。

**1.2.3 指纹图谱研究。**

**1.2.3.1 供试品溶液的制备。**取同一艾粉样品 0.1 g,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,摇匀,然后精密量取 1 mL 置 10 mL 容量瓶中,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,即得。

**1.2.3.2 参照物溶液的制备。**分别精密称取对照品樟脑、*l*-龙脑对照品适量,加乙酸乙酯溶解并定容,制成质量浓度分别为 0.43、10.05 mg/mL 的混合液,作为混合对照品储备液。

**1.2.3.3 色谱条件。**色谱柱为 HP-5 毛细管柱 (30 m  $\times$  0.32 mm, 0.25  $\mu$ m),程序升温 (30  $^{\circ}$ C,保持 5 min,以 10  $^{\circ}$ C/min 程序升温至 50  $^{\circ}$ C,以 2  $^{\circ}$ C/min 升温至 100  $^{\circ}$ C,再以 4  $^{\circ}$ C/min 升温至 160  $^{\circ}$ C,保持 13 min。),载气为高纯氮气,流量 6.5 mL/min;不分流,FID 检测器,检测器温度 260  $^{\circ}$ C,进样口温度 220  $^{\circ}$ C。按 *l*-龙脑计算理论塔板数及分离度。结果发现,理论塔板数不低于 50 000,分离度 >4,符合指纹图谱的相关要求<sup>[9]</sup>。该色谱条件作为 GC 条件。

## 2 结果与分析

### 2.1 理化性质

**2.1.1 性状鉴别。**各批次艾粉为白色、块状、盐粒状或颗粒状结晶,手捻不易碎,具清香气,味辛、凉,具挥发性。

**2.1.2 溶解性测定。**从表 1 可以看出,艾粉易溶于乙醚、乙醇、氯仿,几乎不溶于水。

表 1 艾粉溶解性测定结果

Table 1 Solubility tested results of Aifen

序号 No.	溶剂 Solvent	结果 Result
1	蒸馏水	加到 10 000 mL 仍不溶解
2	乙醇	加到 1 mL 完全溶解
3	乙醚	加到 1 mL 完全溶解
4	氯仿	加到 6 mL 完全溶解

**2.1.3 水分测定。**由图 1 可知,15、16、19、23、31、33、36、44、48 批样品与大多数样品含水量差异较大,但 80% 的艾粉样品含水量不高于 24%。通过对各批次样品的测定,建议艾粉在质量控制的过程中含水量不高于 24% 为宜。

**2.2 TCL 鉴别** 不同溶剂展开系统试验结果见表 2,试验结果表明选择石油醚-乙酸乙酯(9:1)作为展开系统较为适

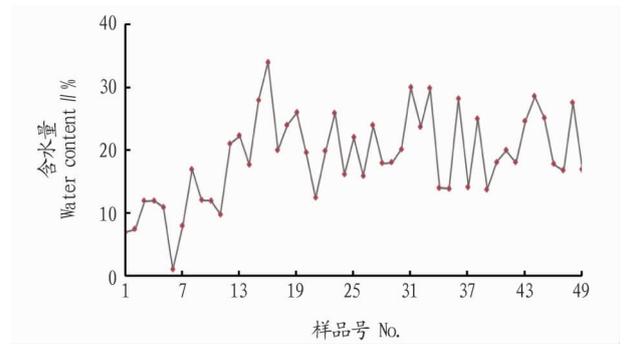
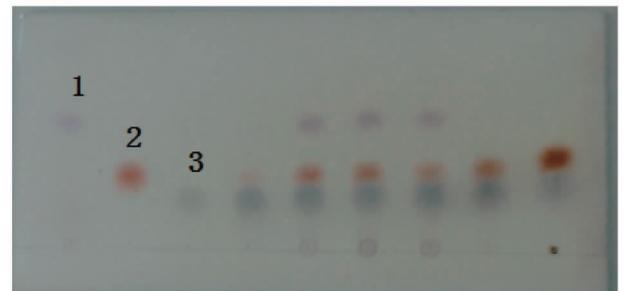


图 1 不同批次艾粉水分含量变化

Fig. 1 Water content variation of different batches of Aifen

宜。供试品色谱中,以 0.5% 香草醛的 10% 硫酸乙醇溶液为显色剂,在与对照品色谱相应的位置上,*l*-龙脑显相同颜色的斑点, $\beta$ -石竹烯、花椒油素显相同颜色的斑点或没有斑点(图 2)。



注:1.  $\beta$ -石竹烯;2. 花椒油素;3. *l*-龙脑

Note: 1.  $\beta$ -caryophyllene; 2. Xanthoxylin; 3. *l*-borneol

图 2 艾粉 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of Aifen

表 2 艾粉不同展开系统薄层色谱

Table 2 TLC of different expansion system of Aifen

序号 No.	展开系统 Expansion system	展开结果 Expansion result
1	环己烷-氯仿-乙酸乙酯(9:1:2)	供试品中有紫红色斑点,但显色不清晰,且底色干扰严重,各斑点未能分开
2	环己烷-丙酮(9:1)	供试品中有紫红色斑点,但显色不清晰,且底色干扰严重,各斑点未能分开
3	石油醚-乙酸乙酯-氯仿(20.0:1.5:3.0)	供试品中有紫红色、橘黄色、蓝色斑点,但显色不清晰,且底色干扰严重,各斑点未能分开
4	石油醚-乙酸乙酯-氯仿(20.0:1.5:5.0)	供试品中有紫红色、橘黄色、蓝色斑点,但显色不清晰,且底色干扰严重,各斑点未能分开
5	石油醚-乙酸乙酯(4:1)	供试品中有紫红色、橘黄色、蓝色斑点,但底色干扰严重,各斑点分开较好,Rf 值较大
6	石油醚-乙酸乙酯(9:1)	供试品中有紫红色、橘黄色、蓝色斑点,但底色干扰严重,各斑点分开较好,Rf 值较适宜

### 2.3 指纹图谱研究

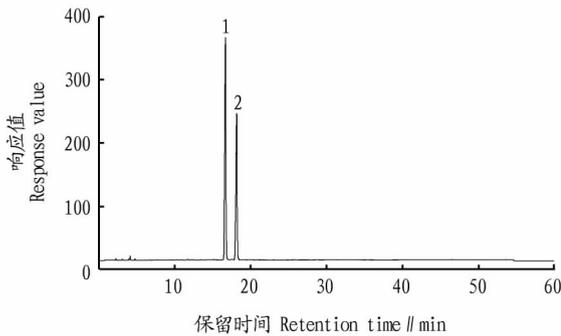
#### 2.3.1 检测方法的检验。

**2.3.1.1 精密度试验。**按“1.2.3.3”色谱条件,取同一供试品溶液连续进样 6 次,测定,记录其色谱图。考察色谱峰的相对保留时间和峰面积比值的一致性。试验结果表明,各色

谱峰的相对保留时间和相对峰面积比值的RSD值均小于3%,表明进样的精密度良好。

**2.3.1.2 稳定性试验。**按“1.2.3.3”色谱条件,取同一供试品溶液分别在0、2、4、8、12、24 h进样,考察色谱峰的相对保留时间和峰面积比值的一致性<sup>[9]</sup>。试验结果表明,各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积比值的RSD值均小于3%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

**2.3.1.3 重复性试验。**按“1.2.3.3”色谱条件,取同一批号的供试品6份,分别进行测定。考察色谱峰的相对保留时间和峰面积比值的一致性。试验结果表明,各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积比值的RSD值均小于3%,表明该方法重复性良好。



注:1. 樟脑;2. *l*-龙脑

Note: 1. camphor; 2. *l*-borneol

**2.3.2 指纹图谱及技术参数。**

**2.3.2.1 指纹图谱采集及共有峰的标定。**将49批艾粉样品按“1.2.3.1”方法进行制备得到进样样品,依法测定记录色谱图得到49批艾粉GC指纹图谱,将其全部导入《中药指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版),生成对照指纹图谱(图3a),共标定反映艾粉内在质量的2个共有色谱峰。通过标准品保留时间的定性得知,1号色谱峰为樟脑(16.778 min),2号色谱峰为*l*-龙脑(18.082 min),保留时间均稳定(图3b)。结合不同批次艾粉GC色谱峰状况,发现2号峰*l*-龙脑峰型对称、响应值高并且为艾粉中主要药效指标成分,故选择其为内标参照峰,计算樟脑的相对保留时间和相对峰面积<sup>[10]</sup>。

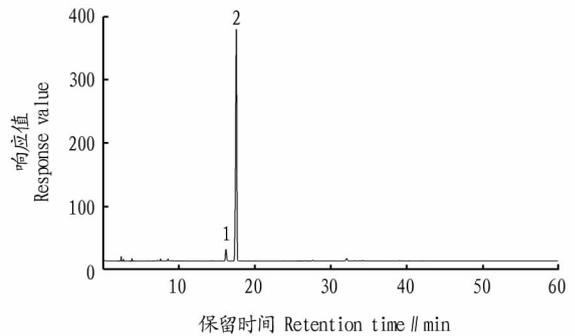


图3 艾粉(a)和对照品(b)GC指纹图谱

Fig.3 GC fingerprint of Aifen (a) and reference substance (b)

**2.3.2.2 特征指纹图谱的建立及相似度评价。**根据所建立的GC指纹图谱方法,连续得到49批艾粉的指纹图谱,建立了艾粉指纹图谱叠加模式色谱图(图4),将各色谱图与特征指纹图谱(图3a)相比较,采用相似系数进行了相似度判别,结果发现(表3),49批艾粉样品中有48批的指纹图谱相似度均在0.9以上,表明48份不同批次艾粉的化学成分相似。

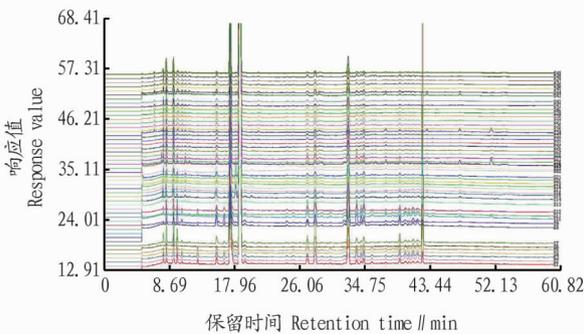


图4 49批不同批次艾粉的GC指纹图谱

Fig.4 GC fingerprints of 49 batches of Aifen samples

### 3 结论与讨论

该研究采用6种不同展开溶剂分别针对艾粉中的*l*-龙脑、 $\beta$ -石竹烯和花椒油素进行了薄层色谱鉴别,发现采用石油醚-乙酸乙酯(9:1)作为展开系统虽然底色干扰较为严重,但是各斑点分开较好,Rf值较适宜。在与对照品色谱相应的位置上,*l*-龙脑显相同颜色的斑点, $\beta$ -石竹烯、花椒油

表3 各样品与对照指纹图谱的相似度结果

Table 3 Similarity result of every sample compared with reference fingerprint

样品编号 Sample No.	相似度 Similarity	样品编号 Sample No.	相似度 Similarity
1	1.000	26	1.000
2	0.999	27	1.000
3	0.998	28	1.000
4	1.000	29	1.000
5	0.999	30	1.000
6	0.983	31	1.000
7	0.605	32	1.000
8	1.000	33	1.000
9	0.997	34	1.000
10	0.996	35	1.000
11	0.993	36	1.000
12	1.000	37	1.000
13	0.999	38	1.000
14	0.986	39	1.000
15	0.998	40	1.000
16	1.000	41	1.000
17	0.977	42	1.000
18	0.999	43	1.000
19	0.999	44	1.000
20	0.978	45	1.000
21	1.000	46	1.000
22	0.988	47	1.000
23	0.999	48	1.000
24	0.999	49	1.000
25	1.000		

素显相同颜色的斑点或没有斑点,说明在艾粉不同批次的样

(下转第133页)

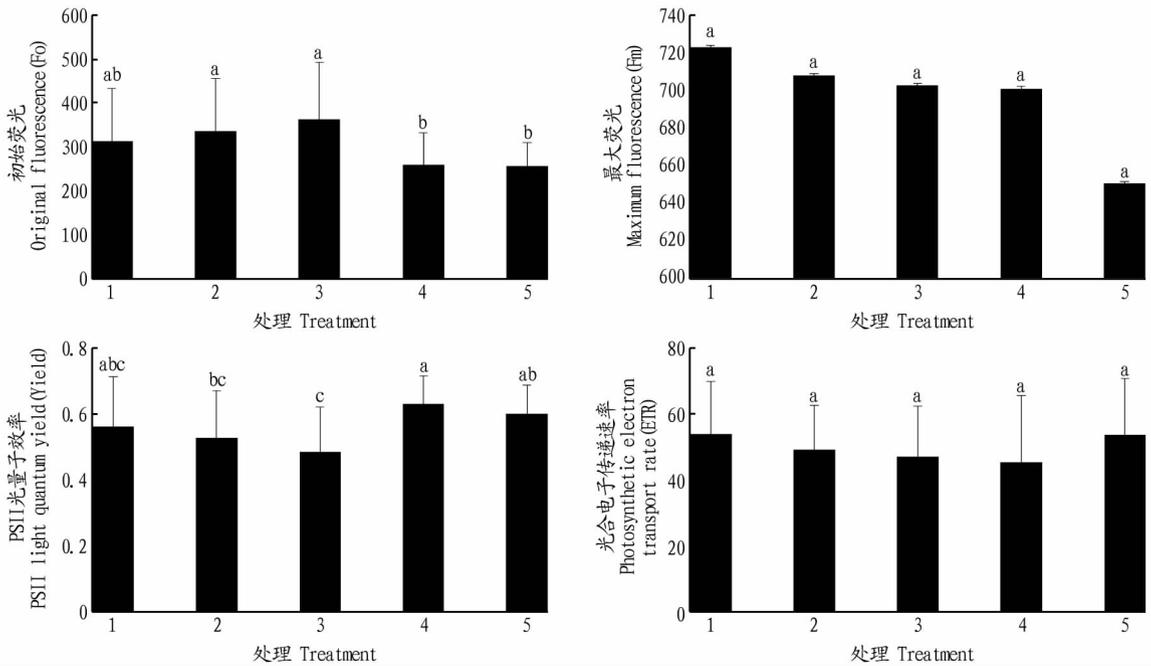


图 2 不同修剪方式的叶片叶绿素荧光特性

Fig. 2 Chlorophyll fluorescence parameters of *Millettia speciosa* leaf by different pruning

## 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1994: 160.
- [2] 韦玉燕, 巫繁菁, 曾海生, 等. 牛大力研究概况[J]. 广西科学院学报, 2010, 26(3): 380-382.
- [3] 段左俊, 曾祥全, 陈飞飞, 等. 牛大力的生物学特性及其栽培管理[J]. 热带林业, 2011, 39(4): 22-25.
- [4] 王雯丽, 邢亚超, 汤迎湛, 等. 崖豆藤属植物化学成分和药理活性的研

究进展[J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 633-641.

- [5] DING P, QIU J Y, YING G, et al. Chemical constituents of *Millettia speciosa*[J]. Chinese herbal medicines, 2014, 6(4): 332-334.
- [6] 徐晓铭, 赖志辉, 管艳艳, 等. ICP-AES 法测定牛大力中的微量元素含量[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(4): 62-64.
- [7] 王世伟, 潘存德, 张大海, 等. 新疆 11 个杏品种叶绿素荧光特征比较[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(4): 637-643.
- [8] 于艳萍, 赵登超, 侯立群. 修剪对核桃叶绿素荧光参数日变化的影响[J]. 山东林业科技, 2013(2): 55-57.

(上接第 130 页)

品中,  $l$ -龙脑为共有成分,  $\beta$ -石竹烯、花椒油素并不是所有艾粉样品都含有的成分。

在艾粉指纹图谱建立的过程中, 比较不同程序升温方法, 以 30 °C 保持 5 min, 然后以 10 °C/min 程序升温至 50 °C, 以 2 °C/min 升温至 100 °C, 以 4 °C/min 升温至 160 °C, 保持 13 min, 可检测到 17 个色谱峰, 60 min 中内出峰完全, 且色谱基线平稳, 各色谱峰分离达到最佳效果, 故确定该方法为最佳程序升温法。试验过程中比较了不同柱流速色谱图, 当采用不同柱流速时, 分离效果无明显差异, 说明柱流速对样品的分离影响较小, 该试验选择了系统默认的柱流速 (6.5 mL/min)。

目前相关报道均是对不同产地艾纳香药材以及其提取物艾纳香油进行指纹图谱研究<sup>[11-12]</sup>, 艾粉作为其主要提取物, 药材本身的质量、提取工艺以及储藏方法都会对其质量产生影响。该试验首次对 49 批艾粉样品的指纹图谱进行研究, 样品量较大, 具有较好的代表性。但 49 批样品仅得到 2 个共有峰, 这可能与艾粉的提取工艺和大样本量有关, 不同批次含有的有效成分不同, TCL 结果表明有的批次含有花椒油素, 有的批次含有  $\beta$ -石竹烯。利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版) 对艾粉指纹图谱的相似度进行研究, 结果表明 49 批艾粉样品中有 48 批的指纹图谱相似

度均在 0.9 以上。试验结果表明该方法建立的艾粉指纹图谱特征性强, 可结合薄层鉴别条件对艾粉质量进行初步研究, 为艾粉在生产过程中的质量控制提供参考依据, 同时也为生产质量稳定的艾片提供可靠的保证。

## 参考文献

- [1] 官玲亮, 庞玉新, 王丹, 等. 中国民族特色药材艾纳香研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 695-698.
- [2] 庞玉新, 谢小丽, 陈振夏, 等. 艾纳香本草考证[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(6): 10-13.
- [3] 江兴龙, 潘俊锋, 司健, 等. 贵州艾纳香产地采收提取艾粉技术研究[J]. 生物质化学工程, 2006, 40(1): 17-20.
- [4] 师琴丽, 覃军章, 王用平, 等. 贵州优势苗药艾纳香及其产品[J]. 中药材, 2003, 26(z1): 87-88.
- [5] 高尔刚, 欧国腾, 叶升亮. 艾纳香产业发展对策[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(24): 212-215.
- [6] 李海艳, 杨全, 庞玉新, 等. 天然冰片、冰片和艾片的鉴别[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(2): 186-189.
- [7] 陈振振, 杜守颖, 陆洋, 等. 艾片与麝香酮芳香开窍作用机制研究[J]. 中药材, 2014, 37(3): 460-464.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 5, 76, 104.
- [9] 刘怡, 孟江, 陈磊. 苦参黄酮类成分 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(3): 282-285.
- [10] 罗国安, 梁琼麟, 王义明. 中药指纹图谱: 质量评价、质量控制与新药研发[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- [11] 刘常青, 段海霞, 宋力飞, 等. 不同时期艾纳香药材的气相指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(21): 28-31.
- [12] 胡璇, 陈振夏, 王凯, 等. 艾纳香油质量标准初步研究[J]. 热带农业科学, 2016, 36(9): 87-91.