

炒南葶苈子饮片的质量标准研究

李进冉^{1,2}, 郭宝林², 陈安家^{1*}, 黄文华²

(1. 山西医科大学, 太原 030001; 2. 中国医学科学院北京协和医科大学药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的: 制定炒南葶苈子饮片的质量标准, 为 2010 年版药典质量标准提供依据。方法: 按照 2005 版药典附录规定进行了炒南葶苈子饮片的 HPLC 含量测定方法和薄层色谱鉴别研究。结果: 11 批炒南葶苈子饮片中槲皮素-3-*O*-*D*-葡萄糖-7-*O*-*D*-龙胆双糖苷的质量分数为 0.076% ~0.132%。薄层鉴别用聚酰胺薄膜法, 展开剂为乙酸乙酯-甲醇-水(7:2:1), 对照品获得良好分离度。结论: 炒南葶苈子饮片中指标成分槲皮素-3-*O*-*D*-葡萄糖-7-*O*-*D*-龙胆双糖苷的质量分数不得少于 0.08%, 南葶苈子炒制过程对于指标成分没有影响, 因此薄层色谱和高效液相质量分数上无法区别南葶苈子药材和炒制饮片。

[关键词] 炒南葶苈子饮片; 质量标准; 含量测定; 薄层色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0035-03

Study on Quality Standard of Semen Descurainiae Tostum

LI Jin-ran^{1,2}, GUO Bao-lin², CHEN An-jia^{1*}, HUANG Wen-hua²

(1. Shanxi medical university, Taiyuan 030001, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] Objective: To provide scientific basis for the quality standard of *Semen Descurainiae Tostum* in 2010 edition of Pharmacopoeia. **Method:** The study of TLC identification and content determination was according to the appendix of 2005 edition of Pharmacopoeia. **Result:** In the 11 batches of the *Semen Descurainiae Tostum*, the content of quercetin-3-*O*-*D*-glucopyranosyl-7-*O*-*D*-gentiobioside was in the range of 0.076% ~0.132%. The reference substance was well separated in the polyamide thin-layer chromatography and the solvent system consisted of acetoacetate-methanol-water(7:2:1). **Conclusion:** The content limit of quercetin-3-*O*-*D*-glucopyranosyl-7-*O*-*D*-gentiobioside was set not less than 0.08%. The Stir-Frying did not affect the content of quercetin-3-*O*-*D*-glucopyranosyl-7-*O*-*D*-gentiobioside, the indicator substance. There was no distinction in reference substance content between *Semen Descurainiae* and *Semen Descurainiae Tostum* in TLC and HPLC.

[Key words] *Semen Descurainiae Tostum*, quality standard; content determination; TLC

葶苈子为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl 或独行菜 *Lepidium apetalum* Willd. 的干燥成熟种子, 前者称为南葶苈子, 后者称为北葶苈子^[1]。葶苈子为常用中药, 味辛、苦, 性大寒。具有止咳平喘, 消肿利尿及强心之功效, 主要用于痰涎壅盛, 喘咳不得卧, 水肿, 悬饮,

胸腹积水, 小便不利等^[2]。炒葶苈子饮片为葶苈子经清炒后制得, 饮片的功能主治同葶苈子, 临床上多以其饮片入药。

槲皮素-3-*O*-*D*-葡萄糖-7-*O*-*D*-龙胆双糖苷是仅存在于南葶苈子中的特征性化合物^[3-6], 被 2010 年版药典修订任务指定为葶苈子药材拟增加的含量测定指标成分。本文以炒南葶苈子饮片中槲皮素-3-*O*-*D*-葡萄糖-7-*O*-*D*-龙胆双糖苷为对照品, 进行了含量测定方法研究以及聚酰胺薄层色谱检测方法研究, 建立了炒南葶苈子饮片的质量控制方法。

[收稿日期] 20100308(001)

[基金项目] 国家 2010 年版药典项目(YD-154)

[通讯作者] 陈安家, Tel: 15835108120, E-mail: chenanjia888

@ 163.com

1 材料

炒南葶苈子饮片主要由浙江中医药大学药厂加工, 见表 1, 同一来源药材平行炒制饮片 3 份, T-3 和 T-6 为作者从药店购得, 经中国医学科学院协和医科大学药用植物研究所郭宝林教授鉴定为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl 的干燥成熟种子。

对照品槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷为自制, HPLC 纯度 >98%。

表 1 炒南葶苈子饮片样品收集表

No.	原植物	产地	样品来源
080711-1		江苏	浙江中医药大学药厂
080711-2		江苏	浙江中医药大学药厂
080711-3		江苏	浙江中医药大学药厂
080712-1		山东	浙江中医药大学药厂
080712-2	播娘蒿	山东	浙江中医药大学药厂
080712-3	<i>D. sophia</i>	山东	浙江中医药大学药厂
080519-1		安徽	浙江中医药大学药厂
080519-2		安徽	浙江中医药大学药厂
080519-3		安徽	浙江中医药大学药厂
T-3		重庆	重庆明星大药房
T-6		重庆	重庆桐君阁中药批发

2 方法与结果

2.1 高效液相色谱法含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Venusil MP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 0.1% 乙酸 (11:89) 为流动相; 检测波长 254 nm; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 25 °C; 进样量为 25 μL; 运行时间为 30 min。在此液相条件下色谱图见图 1。

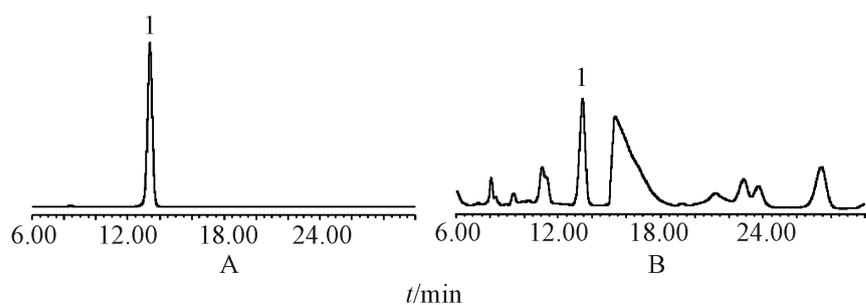


图 1 对照品(A)和炒南葶苈子饮片样品(B)色谱图

1 槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷对照品适量, 加 30% 甲醇制成每 1 mL 约含 20 μg 的对照品溶液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过四号筛), 精密称定 1.0 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 的甲醇溶液 50 mL, 密塞, 称重, 加热回流

提取 1 h, 放冷, 称重, 加 70% 甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 线性关系考察 精密称取槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷对照品 2.5 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加 30% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 及 0.5 mL, 分别置于 2 mL 量瓶中, 加 30% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得不同浓度的对照品溶液, 分别取 25 μL 注入高效液相色谱仪, 重复进样 2 次, 以峰面积积分值为纵坐标, 进样量为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 1.43 \times 10^6 X - 1.26 \times 10^4$, $r = 0.9999$ ($n = 6$), 槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷在 0.156 ~ 1.56 μg 线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液重复进样 6 次, 测得峰面积的平均值为 8.46×10^5 , 其 RSD 为 0.66% ($n = 6$)。

2.1.6 重复性试验 精密称取供试品粉末 1.0 g, 共 6 份, 按供试品溶液制备方法制备, 按上述色谱条件进行测定, 其 RSD 为 1.61% ($n = 6$)。

2.1.7 稳定性试验 制备供试品溶液与对照品溶液, 室温下保存。于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h, 精密吸取 25 μL 进样。对照品溶液的 RSD 为 0.30% ($n = 6$), 供试品溶液 RSD 为 0.83% ($n = 6$)。表明供试品溶液及对照品溶液在制备后 10 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 取炒南葶苈子饮片 6 份, 精密称定, 于每份样品中加入适量槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷对照品溶液, 按供试液制备项制备, HPLC 进样分析, 计算加样回收率, 结果见表 2, 平均加样回收率为 99.12%, RSD 为 1.28%。

表 2 槲皮素-3-O-*D*-葡萄糖-7-O-*D*-龙胆双糖苷加样回收率试验 ($n = 6$)

称样量 /g	样品含量 /mg · kg ⁻¹	加入对照品量 /mg	实测值 /mg · kg ⁻¹	回收率 /%	RSD/%
0.500 1	0.856 2	0.455 0	0.877 2	98.68	
0.499 9	0.855 8	0.455 0	0.873 9	98.02	
0.500 1	0.856 1	0.455 0	0.875 1	98.42	1.28
0.500 0	0.856 0	0.455 0	0.890 0	101.50	
0.500 2	0.856 3	0.455 0	0.880 3	99.34	
0.500 1	0.856 2	0.455 0	0.878 2	98.90	

2.1.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液 25 μL, 按上述规定的色谱条件测定, 采用峰面积外标法, 计算 11 批炒南葶苈子饮片中槲皮

素-3-O- -D-葡萄糖-7-O- -D-龙胆双糖苷的含量, 结果见表 3。

表 3 炒南萆苈子饮片中槲皮素-3-O- -D-葡萄糖-7-O- -D-龙胆双糖苷 (n=2) /%

No.	含量	RSD	No.	含量	RSD
080712 - 1	0.132	0.52	080711 - 1	0.114	0.76
080712 - 2	0.132	0.49	080711 - 2	0.107	0.52
080712 - 3	0.130	1.11	080711 - 3	0.108	1.60
080519 - 1	0.075	1.10	T-3	0.100	0.38
080519 - 2	0.082	1.11	T-6	0.102	0.64
080519 - 3	0.077	1.08	含量平均值	0.105	

2.2 薄层色谱鉴别 按照薄层色谱法^[7] 试验(供试品溶液吸取和对照品溶液的制备方法同高效液相方法), 吸取对照品溶液和供试品溶液各 3 μL, 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以乙酸乙酯-甲醇-水(7:2:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 三氯化铝乙醇溶液, 热风吹干, 置紫外光灯(365 nm) 下检视, 供试品色谱中, 炒南萆苈子饮片在与槲皮素-3-O- -D-葡萄糖-7-O- -D-龙胆双糖苷对照品色谱相应的位置上, 显相同黄色荧光斑点。TLC 图谱见图 2。

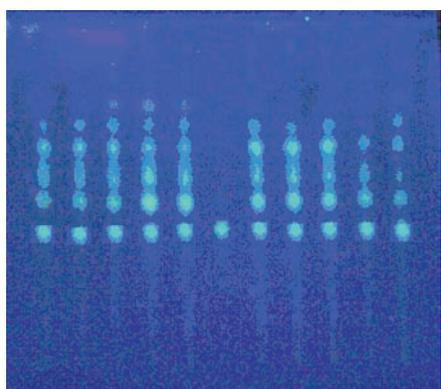


图 2 炒南萆苈子饮片及标准品聚酰胺薄膜 TLC (点样顺序从左到右为: 080519-1, 080519-2, 080519-3, 080712-1, 080712-2, 对照品, 080711-1, 080711-2, 080711-3, T-3, T-6)

3 讨论

3.1 高效液相色谱法含量测定 通过比较不同浓度、不同提取溶剂(甲醇和乙醇)的提取效果, 并考察了不同提取时间, 提取方法, 不同提取次数, 以及不同物料比, 同时考虑进样体积及浓度的影响, 最后确定了文中供试品溶液的制备方法。

考察了 Hanbon Sci. &Tech. Hedra ODS-3、Welch Materials, Inc. Ultimate XB-C₁₈ 和 Hanbon Sci. &Tech. Kromasil1 C₁₈ 柱等多种 C₁₈ 色谱柱, 结果表明

均可适用于本方法来进行炒南萆苈子饮片的含量测定。根据文献报道的检测方法对样品进行检测^[3], 梯度洗脱, 分离效果以及峰形均较差。本文建立的液相方法, 不仅使对照品有良好的峰形, 且为等度洗脱, 操作更加简便、分离度好, 可以作为控制炒南萆苈子饮片质量的方法。

综合 11 批样品测定值, 炒南萆苈子饮片中槲皮素-3-O- -D-葡萄糖-7-O- -D-龙胆双糖苷的含量为 0.076 ~ 0.132%。因此, 炒南萆苈子饮片中对照品含量为不得少于 0.08%。

3.2 薄层色谱鉴别 本文采用了 2 个不同厂家生产的聚酰胺薄膜进行了实验, 均能满足此样本的分离鉴别实验。并且考察了温度和湿度条件对 TLC 的影响, 低温更适合对照品的分离, 成点性及分离度更好, 但室温下展开仍旧能够达到分离度要求; 湿度不影响炒南萆苈子饮片中对照品的分离度。

为了保证中药质量功效的稳定性及用药安全, 本文准确地进行定性、定量检测, 建立了炒南萆苈子饮片的质量标准。但实验结果表明: 南萆苈子炒制过程对于指标成分槲皮素-3-O- -D-葡萄糖-7-O- -D-龙胆双糖苷很少产生影响, 因此薄层色谱和 HPLC 含量上无法区别南萆苈子药材和炒制饮片。

[参考文献]

- [1] 肖培根. 新编中药志[M]. 第二卷. 北京: 化工出版社, 2002: 584.
- [2] 孙凯, 李铄. 萆苈子化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2002, 33(7): 附 3.
- [3] 王爱芹, 王秀坤, 闫兴丽, 等. HPLC 测定南萆苈子中槲皮素-3-O- -D-葡萄糖-O- -D-龙胆双糖苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10): 959.
- [4] 王爱芹, 王秀坤, 赵海誉, 等. 南萆苈子化学成分与质量研究[J]. 中国药物与临床, 2005, 5(7): 5.
- [5] 王爱芹, 王秀坤, 李军林, 等. 南萆苈子的化学成分分离与结构鉴定[J]. 药学学报, 2001, (1): 46.
- [6] 孙凯, 李铄. 南萆苈子的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(6): 419.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 31.

[责任编辑 顾雪竹]