

珠子参饮片质量标准研究

宋小妹^{1,2}, 房方¹, 蔡皓¹, 蔡宝昌^{1*}

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046; 2. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046)

关键词: 珠子参饮片; 质量标准; 薄层色谱鉴别; 高效液相色谱

摘要: 目的: 建立珠子参饮片质量标准。方法: 采用性状、显微、TLC 进行定性鉴别, 高效液相色谱法测定人参皂苷 Ro、竹节参皂苷 IVa 的含量。同时测定了水分、灰分和酸不溶性灰分等。结果: 对四川、云南、贵州等省区所产珠子参饮片中人参皂苷 Ro 和竹节参皂苷 IVa 的含量进行测定, 结果显示, 各样品中人参皂苷 Ro 平均含量为 7.19%, 竹节参皂苷 IVa 的平均含量为 3.16%。结论: 本法操作简便、稳定性好, 可用于珠子参饮片中人参皂苷 Ro 和竹节参皂苷 IVa 的含量测定; 制定的质量标准规范, 结果准确。

中图分类号: R283

文献标识码: A

文章编号: 1001-4528(2010)05-0800-04

Quality standard for prepared pieces of *Rhizoma Panacis Majoris*

SONG Xiao-mei^{1,2}, FANG Fang¹, CAI Hao¹, CAI Bao-chang^{1*}

(1. Nanjing University of TCM, Nanjing 210046, China; 2. Shaanxi College of TCM, Xianyang 712046, China)

KEY WORDS: prepared pieces of *Rhizoma Panacis Majoris*; quality standards; HPLC

ABSTRACT: AIM: To establish quality standard for prepared pieces of *Rhizoma Panacis Majoris*. **METHODS:** Traditional identification and TLC were used for qualitative analysis of prepared pieces. The contents of ginsenoside Ro and chikusetsusaponin IVa were determined by HPLC. Water, ash and acid-insoluble ash were also detected. **RESULTS:** The average content of ginsenoside Ro was 7.19%, chikusetsusaponin IVa was 3.16% from different habitats. **CONCLUSION:** The established method has been proved to be simple, stable, accurate, and can be applied to the determination of ginsenoside Ro and chikusetsusaponin IVa in *Rhizoma Panacis Majoris*. The quality control standards for *Rhizoma Panacis Majoris* is normative and the result is accurate.

珠子参为五加科植物珠子参 (*Panax japonicus* C. A. Mey. var. *major* (Burk.) C. Y. Wu et K. M. Feng 或羽叶三七 *Panax japonicus* C. A. Mey. var. *bipinnatifidus* (Seem) C. Y. Wu et K. M. Feng 的干燥根茎。主产于四川、云南、贵州、甘肃、陕西、西藏等。具有补肺、养阴、活络、止血之功效, 主要用于气阴两虚、烦热口渴、虚劳咳嗽、跌扑损伤、关节疼痛、咳血、外伤出血等症的治疗^[1]。化学研究表明, 珠子参主要活性成分为多种皂苷类^[2]。药理实验表明皂苷类成分具有镇痛、镇静^[3]、增强免疫力^[4,5]、抗肿瘤^[6]等活性。从现行各种标准来看, 珠子参饮片的

质量标准尚不完善。为此, 本实验在对珠子参系统研究的基础上, 以珠子参主要皂苷类成分人参皂苷 Ro、竹节参皂苷 IVa 等为评价指标, 对珠子参饮片进行质量评价研究, 以保证其临床用药的安全有效。

1 实验材料

1.1 珠子参药材 分别购于四川、云南、贵州、湖北等地。经陕西中医学院药学院王继涛高级实验师鉴定, 为珠子参 *Panax japonicus* C. A. Mey. var. *major* (Burk.) C. Y. Wu et K. M. Feng 的干燥根茎。

1.2 珠子参饮片 珠子参饮片为相应药材炮制的加工品(炮制方法: 取原药材, 挑出杂质, 水洗, 清水

收稿日期: 2009-09-24

基金项目: 《中国药典》2010 版一部标准研究(YZ-A23); 陕西省科学技术研究发展计划项目(2006K16-G1(2)); 陕西省教育厅科学研究计划项目(05JK168)

作者简介: 宋小妹(1963-), 女, 教授, 硕士生导师, 博士生, 研究方向: 中药药效物质基础及中药炮制研究。Tel: (029) 38185165 E-mail: songxiaom@126.com

* 通讯作者: 蔡宝昌, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药炮制及中药分析研究。Tel: (025) 85811112 E-mail: bccai@hotmail.com

喷淋3次,放置5h,切厚片。70℃干燥5h,过筛,即得)。

1.3 仪器及试剂

1.3.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪;2996 紫外检测器,Empower 工作站;SB-3200D 型超声清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司,180 W,40 kHz);BP-421S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.3.2 药品与试剂 乙腈为色谱纯(SK Chemicals 公司);其余试剂均为分析纯;水为娃哈哈纯净水;人参皂苷 Ro 对照品、竹节参皂苷 IVa 对照品(均为自制,经¹H NMR、¹³C NMR、HMBC、HMQC 及 HR-MS 确定结构;面积归一法计算含量均大于 98%,符合含量测定要求)。

2 方法与结果

2.1 饮片性状 本品为类圆形或不规则块片,直径 0.2~1.8 cm。表面棕黄色或黄褐色,有皱纹;切面淡黄白色,粉性;或黄白色或黄棕色,略呈角质样。气微,味微苦、微甘。

2.2 粉末显微特征 本品粉末黄白色、灰白色或棕黄色。木栓细胞表面观呈多角形,壁薄,非木化;切面观类方形,内含红棕色分泌物。草酸钙簇晶多,整个薄壁细胞组织均有分布,直径 20~76 μm,棱角多宽钝,少数较尖。导管多为网纹,直径 20~46 μm,螺旋纹、梯纹导管可见。

2.3 薄层色谱鉴别 取本品粉末 1 g,加甲醇 30 mL 超声处理 40 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 加热溶解,水饱和正丁醇萃取 3 次,合并正丁醇萃取液,蒸干,残渣加甲醇 5 mL 加热溶解,作为供试品溶液。另取人参皂苷 Ro 对照品、竹节参皂苷 IVa 对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 各含 2.0 mg 的对照品溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验,分别吸取竹节参皂苷 IVa 对照品溶液、人参皂苷 Ro 对照品溶液各 2 μL,供试品溶液 2 μL 和/或 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(5:10:0.5:0.3:3.5)上层液为展开剂展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 105℃ 加热至斑点显色清晰,置紫外灯(300 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图 1。

2.4 检查

2.4.1 水分测定 依照《中国药典》2005 年版(一部)水分测定法(附录 IX H 第一法)进行测定。测定数据及结果见表 1。

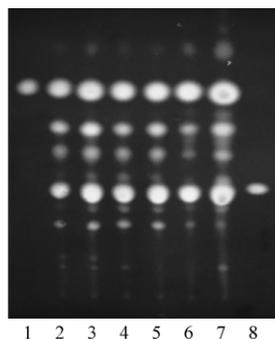


图 1 珠子参饮片薄层色谱图

1、8. 分别为竹节参皂苷 IVa 对照品、人参皂苷 Ro 对照品 2、3. 四川样品溶液(点样量分别为 2 μL、5 μL) 4. 云南样品溶液 5. 贵州样品溶液 6、7. 湖北样品溶液(点样量分别 2 μL、5 μL)

Fig. 1 TLC chromatogram of prepared pieces of *Rhizoma Panacis majoris*

1、8. Chikusetsusaponin IVa and ginsenoside Ro reference substance
2-7. samples

表 1 珠子参饮片中水分、灰分、酸不溶灰分及人参皂苷 Ro、竹节参皂苷 IVa 含量

Tab. 1 Determination results of prepared pieces of

<i>Rhizoma Panacis majoris</i>						
序号	来源	水分 /%	灰分 /%	酸不溶 灰分/%	人参皂苷 Ro 含量/% (RSD/%)	竹节参皂苷 IVa 含量/% (RSD/%)
1	四川	10.80	5.90	0.20	6.78(2.3)	2.77(2.1)
2	云南	14.56	4.74	0.08	9.35(2.0)	3.45(1.8)
3	贵州	12.24	5.15	0.07	9.01(1.8)	4.57(1.1)
4	四川	6.44	6.22	0.64	5.05(1.4)	2.74(1.8)
5	湖北	12.60	4.68	0.10	5.78(1.2)	2.25(1.9)
平均值		11.33	5.34	0.22	7.19	3.16

2.4.2 总灰分 依照《中国药典》2005 年版总灰分测定法(附录 IX K)进行测定。数据及结果见表 1。

2.4.3 酸不溶性灰分测定 依照《中国药典》2005 年版一部总灰分及酸不溶性灰分测定法(附录 IX K)进行测定。测定数据及结果见表 1。

2.5 含量测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil Column C₁₈(5 μm 4.6 mm×250 mm);流动相:乙腈-0.2% 磷酸溶液(36:64);检测波长:203 nm;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL;柱温:30℃;理论板数按竹节参皂苷 IVa 峰计算应不低于 3 000。

2.5.2 对照品溶液制备 分别取竹节参皂苷 IVa 对照品和人参皂苷 Ro 对照品适量,精密称定,加 60% 乙醇配制成竹节参皂苷 IVa 0.260 5 mg/mL,人参皂苷 Ro 0.521 0 mg/mL 的溶液,摇匀,作为对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液配制 取珠子参粉末(过 2 号

筛)约0.1 g 精密称定,加60%乙醇溶液30 mL,超声处理40 min,取出,加60%乙醇补足重量,滤过,取续滤液即得。

2.5.4 线性关系考察 取上述对照品溶液,分别进样1、2.5、5、10、15、20 μL,测定峰面积,分别以人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,并计算回归方程得:人参皂苷Ro: $Y = 1.5 \times 10^5 X - 7\ 909$ ($r = 0.999\ 9$),竹节参皂苷IVa: $Y = 3.2 \times 10^5 X - 18\ 460$ ($r = 1$)。结果表明,人参皂苷Ro在0.51~10.26 μg范围内、竹节参皂苷IVa在0.26~5.21 μg范围内,峰面积Y与进样量(X)线性关系良好。

2.5.5 精密度试验 取对照品溶液10 μL,照2.5.1项下色谱条件,重复进样6次,测定人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa峰面积。结果表明,本法精密度良好,人参皂苷Ro峰面积RSD为0.68%,竹节参皂苷IVa峰面积RSD为1.07%。

2.5.6 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于0、2、4、8、12、18、24 h内进样,照2.5.1项下色谱条件测定人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa峰面积。结果表明,供试品溶液在24 h内峰面积稳定,人参皂苷Ro峰面积RSD为0.68%,竹节参皂苷IVa峰面积RSD为1.61%。

2.5.7 重复性试验 取同一批号样品,平行称取6份,按2.5.3项下方法制备供试品溶液,照2.5.1项下色谱条件测定人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa含量。结果表明,本法具有较好的重复性,人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa RSD分别为1.84%和1.93%。

2.5.8 回收率试验 取已知含量的样品5份,各

0.1 g 精密称定,精密加入人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa对照品适量,按2.5.3项下方法制备供试品溶液,按2.5.1项下色谱条件测定人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa含量。计算回收率,见表2、表3。结果表明,本法回收率良好,人参皂苷Ro和竹节参皂苷IVa的RSD分别为0.46%和0.91%。

表2 人参皂苷Ro回收率试验结果

Tab. 2 Results of recovery test of ginsenoside Ro

样品中人参皂苷Ro量/g	加入人参皂苷Ro量/g	测得人参皂苷Ro量/g	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.014 51	0.015 79	0.030 89	103.69		
0.014 47	0.015 82	0.030 84	103.45		
0.014 54	0.015 73	0.030 71	102.76	103.54	0.46
0.014 54	0.015 83	0.031 01	104.01		
0.014 50	0.015 68	0.030 78	103.81		

表3 竹节参皂苷IVa回收率试验结果

Tab. 3 Results of recovery test of chikusetsusaponin IVa

样品中竹节参皂苷IVa量/g	加入竹节参皂苷IVa量/g	测得竹节参皂苷IVa量/g	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.004 57	0.005 19	0.009 880	102.29		
0.004 56	0.005 16	0.009 940	104.34		
0.004 58	0.005 23	0.010 063	104.74	103.94	0.91
0.004 58	0.005 26	0.010 070	104.28		
0.004 57	0.005 18	0.009 962	104.07		

2.5.9 样品含量测定 取不同批次样品粉末约0.1 g(各2份),精密称定,按2.5.3项下方法制备供试品溶液,进样20 μL,按2.5.1项下色谱条件进行测定,记录色谱峰面积,计算含量,结果见表1。对照品和供试品HPLC图谱见图2。

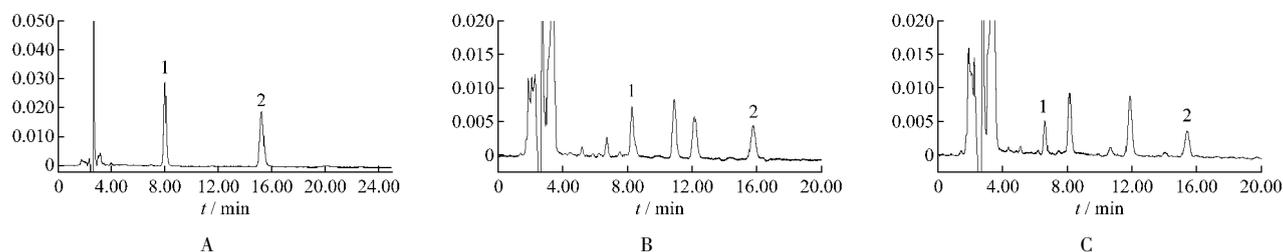


图2 珠子参饮片HPLC图谱

A. 对照品 B. 四川珠子参样品 C. 湖北珠子参样品 1. 人参皂苷Ro 2. 竹节参皂苷IVa

Fig. 2 HPLC chromatograms of prepared pieces of *Rhizoma Pannacis majoris*

A. reference substances B. sample of sichuan C. sample of Hubei 1. ginsenoside Ro 2. chikusetsusaponin IVa

3 讨论

3.1 实验过程所用人参皂苷Ro对照品和竹节参皂苷IVa对照品均为自制,其结构经¹HNMR、¹³CNMR、HMBC、HMQC及HR-MS等方法予以鉴定确认;纯度检查采用HPLC法,面积归一法计算含

量,纯度均在98%以上,分别达到了含量测定所用对照品的技术要求。

3.2 薄层色谱鉴别用于中药鉴别具有快速简便等特点。珠子参饮片的薄层色谱鉴别条件的确定,是在对实验条件的系统考查基础上确立的,而且经反

复试验证明,该方法具有分离度好、斑点清晰、简便易行等特点,可用于珠子参饮片的鉴别。

3.3 实验过程中,对供试品溶液制备的提取方法、提取溶媒、提取时间等条件进行了实验考察。结果表明,该实验条件提取率高、杂质少、操作简便,可用于珠子参饮片的提取。

3.4 本试验首次建立了 HPLC 法同时测定珠子参饮片中人参皂苷 Ro、竹节参皂苷 IVa 含量的方法。该方法专属性强、灵敏度高、重现性好,可用于评价珠子参饮片的质量。

参考文献:

[1] 中国药典[S].一部.2005:192.

- [2] 杨崇仁,周俊,冯宝树,等.秦岭产珠子参根茎的皂苷成分[J].植物学报,1988,30(4):403-408.
- [3] 李巧云,赵恒,岳松健,等.大叶珠子参总皂甙的镇痛镇静作用研究[J].华西药理学杂志,1993,8(2):90-92.
- [4] 李慧兰,李存德.珠子参总皂甙对白细胞介素-1,白细胞介素-2的影响[J].云南中医学院学报,1994,17(1):27-29.
- [5] 朱新华,李存德,后文俊.珠子参总皂甙对脾细胞增殖效应影响的研究[J].昆明医学院学报,1994,15(1):65-67.
- [6] 陈涛,崔帮平,黎家华,等.珠子参对小鼠 H22 肝癌抑制作用及机制[J].世界华人消化杂志,2007,15(24):2597-2601.

13 批不同产地杜仲药材质量检测分析

孔 强, 吕文海*

(山东中医药大学药学院,山东 济南 250355)

关键词:杜仲;浸出物;松脂醇二葡萄糖苷;紫外谱线组

摘要:目的:调查杜仲药材的质量状况。方法:对 13 批不同产地杜仲药材进行了性状鉴定、醇溶性浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量测定及紫外谱线组鉴别。结果:供试杜仲药材性状低于传统等级分类要求,醇溶性浸出物符合要求,松脂醇二葡萄糖苷含量不符合要求者为 30.8%。紫外谱线组具有相同吸收值,可作为杜仲的一种专属性鉴定方法。结论:为完善杜仲药材质量控制方法提供了实验依据。

中图分类号:R283

文献标识码:A

文章编号:1001-528(2010)05-0803-03

杜仲是杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮。具补肝肾、强筋骨、安胎、降血压之效。系中药中“三木资源”之一,生产周期长,市场需求量大。由于野生资源濒于枯竭,市售杜仲药材主为栽培品,多数生长年限短,产地加工不规范,致使杜仲药材质量严重下降。本实验以 2005 版《中国药典》^[1]为据,以外观性状、醇溶性浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量(Pinoresino diglucoside,PDG)为指标,结合紫外谱线组鉴别,对 13 批不同产地杜仲药材进行质量调查分析,以期引起对杜仲药材质量的重视,为控制其质量提供依据。

1 实验材料

1.1 供试药材 13 批杜仲药材分别来自四川、贵

州、河南、陕西、湖北、安徽等杜仲的主要产区。经山东中医药大学中药鉴定教研室周凤琴教授鉴定为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮。
1.2 仪器与试剂 Agilent 1100 高效液相色谱仪;日立 UV3010 紫外可见分光光度计;PDG 对照品(批号 111537-200501,中国药品生物制品检定所)。甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 实验内容及结果

2.1 外观性状鉴别 观察杜仲药材的颜色、气味,测其长、宽度,浸润后刮去栓皮层,用游标卡尺测量厚度,计算其栓皮所占比例,结果见表 1。13 份市售杜仲药材颜色、气味基本符合 2005 版《中国药典》要求,净制后药材厚度远达不到《中国药典》3~7

收稿日期:2009-07-10

基金项目:国家自然科学基金重点项目:中药盐制与咸入肾、肾主骨理论相关性研究(项目批准号:30730113)

作者简介:孔 强(1983-)男,硕士研究生,从事中药炮制研究。Tel:(0531)89623325 E-mail:kongqiang008@163.com

* 通讯作者:吕文海(1955-)教授,研究方向:饮片炮制理论及制备规范化。Tel:(0531)89628081 E-mail:luwenhaitem@163.com