

木蝴蝶药材的质量控制方法研究[△]

温献业^{1*}, 刘光明², 林善远²(1.广东省医学科学院/广东省人民医院, 广州 510080; 2.广东省新兴中药学校, 广东新兴 527400)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2145-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.13

摘要 目的:建立木蝴蝶药材的质量控制方法。方法:按照2010年版《中国药典》(一部)方法测定不同产地木蝴蝶药材中的灰分、酸不溶性灰分与杂质的含量;采用高效液相色谱法测定药材中木蝴蝶苷B的含量;色谱柱为Promosil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-磷酸(42:58:0.2, V/V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为25 ℃,检测波长为254 nm。结果:4个不同产地木蝴蝶药材的总灰分百分含量范围为2.16%~3.99%;酸不溶性灰分范围为0.01%~0.86%;杂质范围为0.26%~0.52%;木蝴蝶苷B质量分数范围为4.49%~6.14%。结论:所建立方法可用于木蝴蝶药材的质量控制。

关键词 木蝴蝶;质量控制;木蝴蝶苷B;高效液相色谱法

Methods for Quality Control of *Oroxylum indicum*

WEN Xian-ye¹, LIU Guang-ming², LIN Shan-yuan²(1. Guangdong Academy of Medical Science/Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China; 2. Guangdong Province Xinxing TCM School, Guangdong Xinxing 527400, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the methods for quality control of *Oroxylum indicum*. METHODS: The contents of ash, acid-insoluble ash and impurities in *O. indicum* from different producing areas were determined according to *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition). The content of oroxin B was detected by HPLC. The determination was performed on Promosil C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid (42:58:0.2, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 25 ℃, and the detection wavelength was set at 254 nm. RESULTS: The contents of total ash in *O. indicum* from 4 producing areas were between 2.16% and 3.99%; the contents of acid-insoluble ash were between 0.01% and 0.86%; the contents of impurities were between 0.26% and 0.52%; the contents of oroxin B were between 4.49% and 6.14%. CONCLUSIONS: The method can be used for the quality control of *O. indicum*.

KEYWORDS *Oroxylum indicum*; Quality control; Oroxin B; HPLC

木蝴蝶为紫葳科植物木蝴蝶 *Oroxylum indicum* (L.) Vent. 的干燥成熟种子,性凉,味苦、甘,归肺、肝、胃经,功能为润肺、疏肝、和胃生肌,用于治疗肺热咳嗽、声音嘶哑、脘腹疼痛等^[1]。木蝴蝶的成分主要有白杨素、木蝴蝶苷A、木蝴蝶苷B、特土苷等^[2]。现代药理研究表明,其具有抗菌、抗炎、抗癌等作用^[3]。木蝴蝶为2010年版《中国药典》收载品种,但其质量标准中只有性状、水分、鉴别和浸出物检查等控制项目;文献报道以黄芩苷含量为指标对其质量进行过评价^[4-6]。鉴于此,本研究拟增加总灰分、酸不溶性灰分和杂质的检测项目,并测定不同地区市售木蝴蝶药材中木蝴蝶苷B的含量,为进一步完善木蝴蝶药材的质量评价提供依据。

1 材料

1.1 仪器

LC200型高效液相色谱(HPLC)仪(上海精密科学仪器有限公司);DHG-9140A/JY-010型电热恒温干燥箱(上海鸿都电子科技有限公司);KQ3200VDB型双频数控超声波清洗器(昆

山市超声仪器有限公司);FA2004B/JY-001型电子天平(上海越平科学仪器有限公司);FW315型中草药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);SX2-4-10型箱式电阻炉(深圳市中込电炉厂)。

1.2 试剂

木蝴蝶苷B对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111915-201001);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.3 药材

于2013年5月从广东、广西、云南、海南等地购回木蝴蝶药材共4批样品,编号1~4,经广东省新兴中药学校彭瑞松副主任中药师鉴定为紫葳科植物木蝴蝶 *O. indicum* (L.) Vent. 的干燥成熟种子。

2 方法与结果

2.1 木蝴蝶药材的总灰分、酸不溶性灰分测定

取4批木蝴蝶药材各适量,粉碎成细粉,过二号筛,分别按2010年版《中国药典》(一部)附录方法^[7]测定总灰分与酸不溶性灰分,结果见表1。

2.2 木蝴蝶药材的杂质检查

取4批木蝴蝶药材各适量,分别按2010年版《中国药典》

△基金项目:广东省科技计划项目(No.2009B060600009)

* 主管药师。研究方向:医院药学。E-mail: wenxianye88@163.

com

(一部)附录方法^[7]进行杂质检查,结果见表1。

表1 不同产地木蝴蝶药材的总灰分、酸不溶性灰分、杂质检测结果($n=5$)

Tab 1 The contents of total ash, acid-insoluble ash and impurity in *O. indicum* from different producing areas ($n=5$)

样品号	产地	总灰分,%	酸不溶性灰分,%	杂质,%
1	广东	3.99	0.86	0.52
2	广西	2.16	0.01	0.34
3	云南	2.78	0.54	0.26
4	海南	3.62	0.33	0.42
\bar{x}		3.14	0.44	0.39

2.3 木蝴蝶苷B的含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Promosil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相:甲醇-水-磷酸(42:58:0.2, V/V/V); 流速:1.0 ml/min; 柱温:25 °C; 检测波长:254 nm; 进样量:10 μl。色谱见图1。

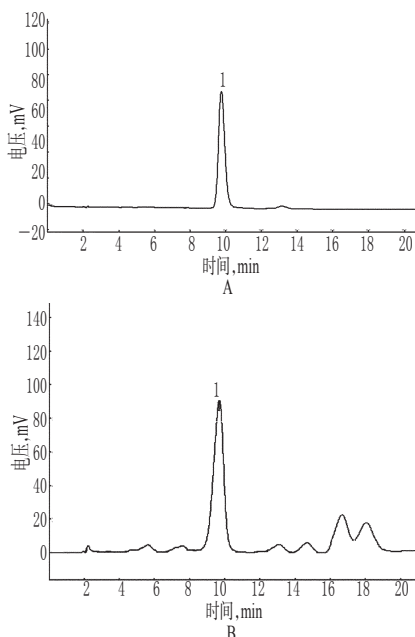


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 木蝴蝶苷B

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; 1. oroxin B

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过二号筛)约0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇50 ml, 称定质量, 加热回流1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.3 对照品溶液的制备 精密称取木蝴蝶苷B对照品适量, 置100 ml量瓶中, 加50%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 ml含木蝴蝶苷B 0.01 mg的溶液, 即得。

2.3.4 线性关系考察 精密称取木蝴蝶苷B对照品10.17 mg, 置10 ml量瓶中, 加50%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取该溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml, 分别置2 ml量瓶中, 加50%甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件分别进样10 μl, 测定峰面积。以峰面积积分值(x)对对照品进样量(y)进行线性回归, 得回归方程为 $y=0.000\ 05x+0.037\ 5$ ($r=0.999\ 9, n=5$)。结果表明, 木蝴蝶苷B的进样量在1.017~5.085 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.3.5 精密度试验 取对照品溶液适量, 按上述色谱条件进样测定, 重复6次, 记录峰面积。结果显示, $RSD=0.03\%$ ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取本品粉末(样品号:1)适量, 共6份, 分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果显示, 样品中木蝴蝶苷B的平均质量分数为5.32%, $RSD=2.23\%$ ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(样品号:1)适量, 分别于0、2、4、8、12、24、48、72 h按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果显示, $RSD=0.43\%$ ($n=8$), 表明供试品溶液在72 h内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取已测知含量的同一批木蝴蝶粉末(样品号:1)约0.1 g, 精密称定, 分别精密加入10 ml木蝴蝶苷B对照品溶液(0.543 mg/ml), 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 计算加样回收率, 结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery tests ($n=6$)

称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
0.100 5	5.347 3	5.438 2	10.743 6	99.23		
0.099 9	5.315 4	5.438 2	10.698 4	98.98		
0.099 8	5.310 2	5.438 2	10.726 2	99.59	98.66	0.67
0.100 3	5.336 1	5.438 2	10.645 3	97.62		
0.100 1	5.325 8	5.438 2	10.702 5	98.86		
0.100 4	5.341 6	5.438 2	10.653 1	97.67		

2.3.9 样品含量测定 取4批木蝴蝶样品粉末各约0.5 g, 精密称定, 分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰面积按干燥品计算样品中木蝴蝶苷B的含量, 结果见表3。

表3 不同产地木蝴蝶药材中木蝴蝶苷B的含量测定结果($n=5$)

Tab 3 Content determination of oroxin B in *O. indicum* from different producing areas ($n=5$)

样品号	产地	质量分数,%	RSD,%
1	广东	5.32	2.23
2	广西	6.14	2.15
3	云南	4.49	2.54
4	海南	5.62	2.33

3 讨论

本研究首次增加了木蝴蝶药材总灰分、酸不溶性灰分、杂质等项目的检测, 目的是控制木蝴蝶药材的杂质含量, 确保其纯度。4批木蝴蝶药材总灰分测定结果范围为2.16%~3.99%, 酸不溶性灰分范围为0.01%~0.86%, 杂质范围为0.26%~0.52%。为提高木蝴蝶药材的纯度, 参考相关文献^[8-10], 建议暂定总灰分检查限度不得超过5.0%, 酸不溶性灰分检查限度不得超过1.0%, 杂质检查限度不得超过1.0%。

笔者分别比较了冷浸法、超声法和加热回流法3种样品提取方法的提取结果, 发现加热回流法的提取率最高, 提取时间也不长, 故采用加热回流法提取样品。

在流动相系统的选择时, 笔者分别对甲醇-醋酸水溶液、乙腈-甲醇-醋酸水溶液、乙腈-甲醇-甲酸水溶液、乙腈-0.4%磷酸水溶液、甲醇-乙腈-冰醋酸水溶液、甲醇-0.4%磷酸水溶液^[11]等多个流动相系统进行考察。结果表明, 用甲醇-磷酸水溶液系

HPLC法同时测定黑柴胡药材中柴胡皂苷a和d的含量^Δ

刘来正*, 冀小君, 捱榜琴*(山西药科职业学院, 太原 030031)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2147-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.14

摘要 目的:建立同时测定黑柴胡药材中柴胡皂苷a和d含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(38:62, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm。结果:柴胡皂苷a和d的进样量分别在0.425~6.375 μg和0.130~3.250 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系(*r*均为0.999 9);精密性、稳定性和重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率分别为96.66%(RSD=1.11%, *n*=6)和96.20%(RSD=0.78%, *n*=6)。结论:该方法简便、重复性好,结果稳定、可靠,可用于黑柴胡药材的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;柴胡皂苷a;柴胡皂苷d;黑柴胡;含量测定

Simultaneous Determination of Saikosaponin a and d in *Bupleurum smithii* by HPLC

LIU Lai-zheng, JI Xiao-jun, YA Bang-qin(Shanxi Pharmaceutical Occupational College, Taiyuan 030031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the simultaneous determination of saikosaponin a and d in *Bupleurum smithii*. METHODS: HPLC method was adopted. Inertsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used with mobile phase consisted of acetonitrile-water (38:62, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm. RESULTS: The linear range of saikosaponin a and d were 0.425-6.375 μg(*r*=0.999 9) and 0.130-3.250 μg(*r*=0.999 9). RSD of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The average recoveries were 96.66% (RSD=1.11%, *n*=6) and 96.20% (RSD=0.78%, *n*=6) for saikosaponin a and d, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, reproducible, stable and reliable. It can be used for the quality control of *B. smithii*.

KEYWORDS HPLC; Saikosaponin a; Saikosaponin d; *Bupleurum smithii*; Content determination

黑柴胡药材为伞形科(Umbelliferae)柴胡属(*Bupleurum*)植物黑柴胡*B. smithii* Wolff或小叶黑柴胡*Bupleurum smithii* Wolff var. *parvifolium* Shan et Y. Li的干燥根,具有“疏散退热、升阳疏肝”之功效,主要用于感冒发热、寒热往来、疟疾、胸胁

胀痛、月经不调、子宫脱垂、脱肛等^[1]病症。黑柴胡植物分布于山西、河北、陕西、河南、青海、甘肃、内蒙古、宁夏等省区,主产于山西(宁武、五台、浑源、灵丘、神池、广灵、代县、娄烦等县)^[2]、河北(小五台山、杨家坪、东陵)^[3]、甘肃(张掖、白银、兰州、定西、

统洗脱后,木蝴蝶苷B的分离度能达到测定要求,且色谱图基线平稳、色谱峰对称性好,故选其作为流动相。

本研究对广东、广西、云南、海南等不同产地的木蝴蝶药材中木蝴蝶苷B的含量进行测定,结果显示,不同产地木蝴蝶药材中木蝴蝶苷B的含量存在差异。造成这种差异的主要原因在于药材在生长过程中受产地气候、环境、栽培方法等因素的影响。

综上,本研究所建方法可用于木蝴蝶药材的质量控制。

参考文献

- [1] 罗献瑞.实用中草药彩色图集:第1册[M].广州:广东科学技术出版社,1992:338-339.
- [2] 王强,徐国钧.道地药材图典:西南卷[M].1版.福州:福建科学技术出版社,2003:119-120.
- [3] 郑虎占,董泽宏,余靖.中药现代研究与应用:第1卷

Δ 基金项目:山西省中药材、中药饮片地方标准研究项目(No.2011019A)

* 副教授。研究方向:资源开发与品质鉴定。电话:0351-7820668。E-mail:laizhengliu@163.com

通信作者:教授。研究方向:中药鉴定和药用植物栽培。电话:0351-7820668。E-mail:shanxi_xf@163.com

[M].1版.北京:学苑出版社,1997:924-925.

- [4] 曹阳阳,晏仁义,杨滨,等.HPLC测定广西木蝴蝶中木蝴蝶苷B和黄芩苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):82.
- [5] 张爱玲,文毅,傅国强,等.RP-HPLC法测定木蝴蝶中黄芩苷的含量[J].江西中医学院学报,2006,18(5):31.
- [6] 仝会娟,张强,康琛.木蝴蝶药材中黄芩素和白杨素的含量测定[J].中国中医药信息杂志,2009,16(12):52.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录47,附录53.
- [8] 姚丽红.浅谈中药材的灰分含量[J].基层中药杂志,1996,10(3):24.
- [9] 傅泉炎.中药含水量与中药仓储质量的关系[J].中国药业,2002,11(5):70.
- [10] 杨增,张君,张福,等.中药饮片中水分、总灰分、酸不溶性灰分的连续测定[J].中国卫生检验杂志,2009,5(5):68.
- [11] 黄楚权,熊斌.RP-HPLC法测定罗布麻叶饮片中金丝桃苷的含量[J].中国药房,2013,24(23):2180.

(收稿日期:2014-02-08 修回日期:2014-03-31)