

# 彝药水指甲药材的质量标准研究<sup>Δ</sup>

罗伦才<sup>1\*</sup>, 吴伯英<sup>2</sup>, 李列平<sup>1</sup>, 周明慧<sup>2</sup>, 吕晓琼<sup>2</sup> (1. 凉山彝族自治州第二人民医院, 四川 西昌 615000; 2. 凉山彝族自治州食品药品检验所, 四川 西昌 615000)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2152-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.16

**摘要** 目的: 建立彝药水指甲药材的质量标准。方法: 分别对水指甲药材进行性状鉴别和粉末显微鉴别, 再以 $\beta$ -谷甾醇为对照品进行薄层色谱(TLC)鉴别; 采用《中国药典》方法测定不同产地水指甲药材的水分、总灰分、酸不溶性灰分、醇溶性浸出物并制定其限度。结果: 样品性状和显微鉴别特征明显, TLC特征斑点清晰, 水分、总灰分、酸不溶性灰分、醇溶性浸出物的平均百分含量分别为9.5%、12.9%、2.6%、22.5%。结论: 所建标准可用于水指甲药材的质量控制。

**关键词** 彝药; 水指甲;  $\beta$ -谷甾醇; 质量标准

## Study on Quality Standards of Yi Medicine *Rotala rotundifolia*

LUO Lun-cai<sup>1</sup>, WU Bo-ying<sup>2</sup>, LI Lie-ping<sup>1</sup>, ZHOU Ming-hui<sup>2</sup>, LYU Xiao-qiong<sup>2</sup> (1. Second People's Hospital of Liangshan Yi Autonomous Prefecture, Sichuan Xichang 615000, China; 2. Liangshan Yi Autonomous Prefecture Institute for Food and Drug Control, Sichuan Xichang 615000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish quality standards of Yi medicine *Rotala rotundifolia*. METHODS: Trait identification and powder microscopy of *R. rotundifolia* were conducted, and TLC identification was carried out, taking  $\beta$ -sitosterol as control; the method stated in *Chinese Pharmacopoeia* was used to determine water content, total ash content, acid insoluble ash content, ethanol soluble extractives of *R. rotundifolia* and their limits. RESULTS: The sample property and characteristics of microscopic identification were significant. TLC spots were clear. The water content, total ash content, acid insoluble ash content and ethanol soluble extractives content were 9.5%, 12.9%, 2.6% and 22.5%. CONCLUSIONS: Established standard can be used for the quality control of *R. rotundifolia*.

**KEYWORDS** Yi medicine; *Rotala rotundifolia*;  $\beta$ -sitosterol; Quality standards

水指甲为千屈菜科节节菜属植物圆叶节节菜 *Rotala rotundifolia* (Buch.-Ham. ex Roxb.) Koehne 的干燥全草, 别名“水菟菜”“水豆瓣”等。它系凉山彝医习用药材, 彝语名为“依洛色”, 性凉, 味甘、淡, 具有清热、利尿、消肿、解毒之功效, 用于治疗热痢、肺热咳嗽、水臌、淋病、月经不调、痛经、痔疮、牙龈肿痛、痈肿疮毒、急性肝炎等<sup>[1-5]</sup>。本品至今尚无药材质量标准, 2010年版《四川省中药材标准》中亦未见收载, 致使本品的开发利用受到很大限制。为此, 笔者采集了四川凉山州所产10批水指甲药材, 通过对其药材形态特征、粉末显微特征、薄层色谱(TLC)鉴别及水分、总灰分、酸不溶性灰分、醇溶性浸出物的测定, 为彝药水指甲药材的质量标准研究提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

CS101-2型电热鼓风干燥箱(重庆试验设备厂); AB104型电子天平(上海天平仪器厂); 箱式电阻炉(上海路达实验仪器有限公司); 电炉(北京市永光明医疗仪器厂)。

### 1.2 试剂

$\beta$ -谷甾醇对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 0851-9601); 硅胶GF<sub>254</sub>(青岛海洋化工厂); 三氯甲烷、甲醇、丙酮均为分析纯。

### 1.3 药材

10批水指甲药材, 产地分别为四川凉山州西昌市西郊乡、高草乡与德昌县王所乡, 经四川凉山州食品药品检验所吕晓琼主任中药师及周明慧副主任中药师鉴定, 均为千屈菜科植物圆叶节节菜的干燥全草。

## 2 方法与结果

### 2.1 性状鉴别

本品茎呈类圆柱形, 长5~30 cm, 直径0.1~0.3 cm, 表面淡红棕色或灰绿色, 有纵棱, 质脆, 易折断, 断面外侧淡黄棕色, 有细孔; 中部有一黄白色小木心。叶对生, 叶片圆形、倒卵形至阔矩形, 长3~8 mm, 全缘, 浅黄色至灰绿色; 无柄或具短柄, 叶多脱落, 脱落后叶柄痕明显。花很小, 两性; 组成1~5(7)顶生、稠密的穗状花序; 淡紫色。蒴果椭圆形; 种子无翅。气微, 味微苦涩。

### 2.2 显微鉴别

2.2.1 茎横切面 表皮细胞1列, 紧密排列。皮层外侧有2~3列细胞呈环状排列, 内侧有两列较大间隙。草酸钙簇晶存在于皮层薄壁细胞和髓部细胞中, 直径15~30  $\mu$ m。淀粉粒存在于皮层薄壁细胞中。维管束外韧型, 形成层明显; 木质部成环; 髓部细胞明显。水指甲茎横切面的显微鉴别图见图1。

2.2.2 叶粉末 灰绿色, 上表皮细胞较平直, 下表皮细胞垂周壁波状弯曲; 气孔不定式或不等式; 叶肉组织中含草酸钙簇晶, 直径8~25  $\mu$ m。淀粉粒单粒类圆形、半圆形、椭圆形, 直径

<sup>Δ</sup> 基金项目: 四川省中医药管理局科技专项课题(No.2010-87)

\* 主任中药师。研究方向: 民族药物的开发与应用。电话: 0834-2190477。E-mail: llc646589@126.com

5~25 μm,脐点点状,层纹不明显,少见复粒由2~3粒组成;维管束导管网纹、螺旋纹、螺纹,直径20 μm。水指甲叶粉末的显微鉴别图见图2。

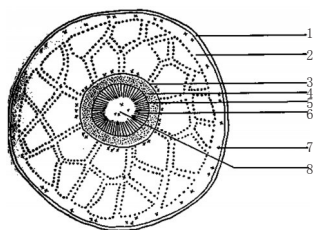


图1 水指甲茎横切面的显微鉴别图

1.表皮;2.皮层;3.内皮层;4.韧皮部;5.形成层;6.木质部;7.草酸钙簇晶;8.髓

Fig 1 Microscopic identification of the stem of *R. rotundifolia*

1.epidermis; 2.cortex; 3.endodermis; 4.phloem; 5.cambium.6.xylem; 7.the family crystal of calcium oxalate;8.marrow

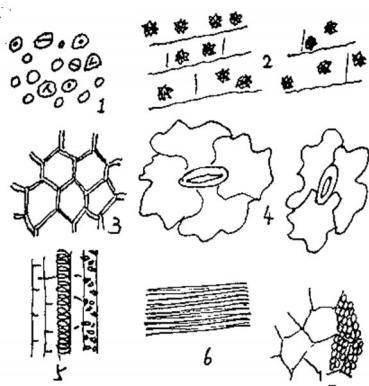


图2 水指甲叶粉末的显微鉴别图

1.淀粉粒;2.草酸钙簇晶;3.茎表皮细胞;4.气孔;5.导管;6.纤维束;7.叶表皮细胞

Fig 2 Microscopic identification of the powder of *R. rotundifolia* leaf

1.starch grain; 2.the family crystal of calcium oxalate; 3.stem epidermal cells; 4.blowhole; 5.catheter; 6. vascular bundle; 7. leaf epidermal cells

### 2.3 相关杂质检查和醇溶性浸出物测定

取水指甲药材适量,粉碎成细粉,按2010年版《中国药典》(一部)附录各项测定法<sup>[6]</sup>测定水分、总灰分、酸不溶性灰分与醇溶性浸出物,结果见表1。

由表1结果,暂定本品水分不得过13.0%,总灰分不得过18.0%,酸不溶性灰分不得过7.0%,醇溶性浸出物不得少于15.0%。

### 2.4 TLC鉴别

取本品粉末5g,置三角瓶中,加三氯甲烷-甲醇混合溶液(3:1, V/V) 50 ml,加热回流2h,滤过,滤液蒸干,残渣加丙酮2 ml使溶解,作为供试品溶液。另取β-谷甾醇对照品适量,加丙酮制成每1 ml含1 mg的溶液,作为对照品溶液。照TLC法<sup>[6]</sup>试验,吸取上述两种溶液各3~5 μl,分别点于同一硅胶GF<sub>254</sub>薄层板上,以三氯甲烷-丙酮(25:1, V/V)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,分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视。结果表明,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点或

荧光斑点。水指甲药材的TLC图见图3。

表1 水指甲药材中水分、总灰分、酸不溶性灰分与醇溶性浸出物测定结果(n=10)

Tab 1 Results of water content, total ash content, acid insoluble ash content and ethanol soluble extractives content of *R. rotundifolia* (n=10)

编号	产地	水分, %	总灰分, %	酸不溶性灰分, %	醇溶性浸出物, %
1	西昌西郊	9.7	12.0	3.7	22.4
2	德昌王所	10.0	13.3	0.5	27.5
3	西昌高草	8.7	12.3	2.4	20.6
4	西昌西郊	10.4	15.5	5.1	23.4
5	西昌西郊	9.8	12.6	1.8	24.2
6	西昌西郊	9.5	13.3	2.8	23.2
7	德昌王所	9.4	12.3	2.5	21.1
8	西昌西郊	9.2	12.8	2.2	20.7
9	西昌西郊	9.2	12.7	2.1	20.9
10	西昌高草	8.9	12.5	2.5	20.5
$\bar{x}$		9.5	12.9	2.6	22.5

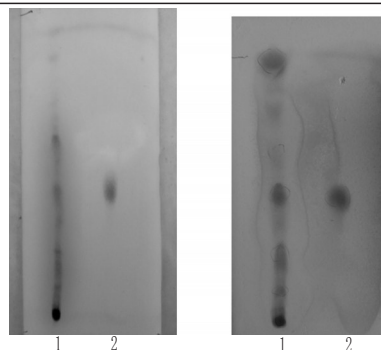


图3 水指甲药材的TLC图

A.日光下;B.365 nm紫外光灯下;1.供试品;2.β-谷甾醇对照品

Fig 3 TLC of *R. rotundifolia*

A.under sunlight;B.under UV lamp at 365 nm; 1.test sample; 2.β-sitosterol control

### 3 讨论

水指甲生长于水田边及潮湿处,分布于我国长江以南地区及台湾各地<sup>[7-8]</sup>,系我国南部水稻田的主要杂草之一,群众常用作猪饲料<sup>[1]</sup>。水甲痔血胶囊以本品为主要原料制成,含水指甲、栀子、黄连、夏枯草、僵蚕。水甲痔血胶囊对小鼠急性毒性实验结果表明,在观察期内,未发现动物有明显的中毒症状和死亡发生;对大鼠长期毒性实验结果表明,在4周给药期间未见明显毒性反应和延迟毒性反应<sup>[9]</sup>,这为临床安全应用本品提供了实验依据。关于本品所含成分,文献<sup>[2,5,10]</sup>仅记载“含酚类、氨基酸、黄酮苷”。与本品同为千屈菜科植物的水苋菜(*Ammannia baccifera* L.),其果实中含三十一烷、三十二烷醇、1,30-三十烷二醇、β-谷甾醇、β-D-葡萄糖苷;叶中含三十一烷、三十二烷醇、1,30-三十烷二醇、没食子酸和槲皮素<sup>[7]</sup>。由此推测水指甲和水苋菜中可能含有某些相同成分,故笔者选择槲皮素、没食子酸、β-谷甾醇与供试品进行TLC试验。结果表明,当以水指甲的三氯甲烷-甲醇混合提取物的丙酮溶解液作为供试品溶液时,供试品色谱在与β-谷甾醇对照品色谱相应的位置上,会显示相同颜色的斑点。下一步工作将以此为基础,开展相关成分分析研究,并进一步完善水指甲药材质量标准体系,为开发利用彝药水指甲药材资源打下更坚实的基础。

# HPLC法同时测定双丹颗粒中3种成分的含量

南海军<sup>1\*</sup>, 谭玉彬<sup>2</sup>, 梁生旺<sup>1</sup>, 龚梦鹃<sup>1</sup>, 韩亮<sup>3#</sup>(1.广东药学院中药学院, 广州 510006; 2.南方医科大学附属何贤纪念医院, 广州 511400; 3.广东药学院科技产业与社会服务处, 广州 510006)

中图分类号 R283.627; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2154-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.17

**摘要** 目的: 建立同时测定双丹颗粒中丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>、丹皮酚含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为Phenomenex C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-甲酸(甲酸8.3 ml→500 ml)水溶液(30:7:63, V/V/V), 流速为1.0 ml/min, 检测波长为286 nm, 柱温为30 ℃。结果: 丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>、丹皮酚的进样量分别在0.414~4.140、0.064~0.640、0.228~2.280 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(*r*分别为0.999 8、0.999 7、0.999 8); 精密度、稳定性、重复性试验的RSD<3%; 平均加样回收率分别为97.35% (RSD=1.19%, *n*=6)、97.56% (RSD=1.86%, *n*=6)、96.86% (RSD=1.67%, *n*=6)。结论: 该方法简单、可靠、专属性强, 可作为双丹颗粒的质量控制方法。

**关键词** 双丹颗粒; 丹酚酸B; 丹参酮II<sub>A</sub>; 丹皮酚; 含量测定; 高效液相色谱法

## Content Determination of 3 Components in Shuangdan Particles by HPLC

NAN Hai-jun<sup>1</sup>, TAN Yu-bin<sup>2</sup>, LIANG Sheng-wang<sup>1</sup>, GONG Meng-juan<sup>1</sup>, HAN Liang<sup>3</sup> (1.School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2.Hexian Memorial Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou 511400, China; 3.Scientific Research and Social Service Office, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of salvianolic acid B, tanshinone II<sub>A</sub> and paeonol in Shuangdan particles. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Phenomenex C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-formic acid (8.3 ml→500 ml) solution (30:7:63, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 286 nm, and column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear ranges of salvianolic acid B, tanshinone II<sub>A</sub> and paeonol were 0.414-4.140 μg (*r*=0.999 8), 0.064-0.640 μg (*r*=0.999 7) and 0.228-2.280 μg (*r*=0.999 8). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3%. The average recoveries were 97.35% (RSD=1.19%, *n*=6), 97.56% (RSD=1.86%, *n*=6) and 96.86% (RSD=1.67%, *n*=6). CONCLUSIONS: The method is simple, reliable and specific. It can be used for quality control of Shuangdan particles.

**KEYWORDS** Shuangdan particles; Salvianolic acid B; Tanshinone II<sub>A</sub>; Paeonol; Content determination; HPLC

双丹颗粒是由丹参、牡丹皮经现代提取工艺制备的新型中药复方制剂, 具有活血化瘀、通脉镇痛之功效, 用于淤血痹阻所致的胸痹等症的治疗, 处方中丹酚酸B、丹参酮II<sub>A</sub>、丹参

素、丹皮酚等为其主要有效成分<sup>[1-2]</sup>。文献报道, 双丹颗粒目前多采用高效液相色谱(HPLC)法测定单一组分或多组分的含量进行质量控制, 如李正国等<sup>[3]</sup>采用HPLC同时测定双丹颗粒

## 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: 第52卷第2册[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 75.
- [2] 江苏新医学院. 中药大词典: 上册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 531.
- [3] 清·刘善述. 草木便方[M]. 重庆: 重庆出版社, 1988: 122.
- [4] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编: 下册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 128.
- [5] 《四川中药志》协作编写组. 四川中药志: 第1卷[M]. 成都: 四川人民出版社, 1980: 64.
- [6] 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34、附录52、附录53、附录62.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第5册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 596.
- [8] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴: 第2册[M]. 北京: 科学出版社, 1972: 975.
- [9] 罗伦才, 季小平, 张仲林, 等. 水甲痔血胶囊毒理作用研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2012, 10(19): 157.
- [10] 广州市药品检验所. 农村中草药制剂技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 456.

(收稿日期: 2014-02-27 修回日期: 2014-04-13)

\* 讲师, 硕士。研究方向: 药物分析、色谱分析。电话: 020-39352180。E-mail: gdpuetm@gmail.com

# 通信作者: 助理研究员, 博士。研究方向: 临床药理与药物代谢学。电话: 020-39352691。E-mail: hanliang72@126.com