

石刁柏药材的质量标准研究[△]

刘林凤*,高淑红,李慧博,吕建军,高宝益,刘来正[#](山西药科职业学院,太原 030031)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)27-2541-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.27.15

摘要 目的:建立石刁柏药材的质量标准。方法:按2010年版《中国药典》(一部)规定对石刁柏药材进行显微和薄层色谱(TLC)鉴别,并对10批石刁柏药材的水分、灰分、酸不溶性灰分进行检查;在570 nm波长处采用紫外-可见分光光度法对石刁柏药材中的菝葜皂苷元进行含量测定。结果:确定了石刁柏药材的显微特征,建立了其TLC鉴别方法,拟定了其水分、灰分、酸不溶性灰分限量。菝葜皂苷元的进样量在0.037 3~0.111 8 mg范围内与吸光度呈良好的线性关系($r=0.999 6$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD $<2\%$;平均加样回收率为99.58%,RSD=1.81%($n=9$)。结论:所建标准可用于石刁柏药材的质量评价。

关键词 石刁柏;质量标准;薄层色谱法;紫外-可见分光光度法;菝葜皂苷元

Study on the Quality Standards of *Asparagus officinalis* Medicinal Materials

LIU Lin-feng, GAO Shu-hong, LI Hui-bo, LYU Jian-jun, GAO Bao-yi, LIU Lai-zheng (Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyan 030031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standards of *Asparagus officinalis* medicinal materials. METHODS: According to first part of *China Pharmacopoeia* (2010 edition), *A. officinalis* medicinal materials was identified by microscopic and TLC. The moisture, ash content and acid-insoluble ash content in 10 batches were determined; the content of sarsasapogenin in *A. officinalis* was determined by UV visible spectrophotometry at 570 nm. RESULTS: The microscopic characteristics of *A. officinalis* had been determined; TLC identification method had been established; the content of moisture, ash and acid-insoluble ash had been detected. The linear range of sarsasapogenin was 0.037 3-0.111 8 mg ($r=0.999 6$) with an average recovery of 99.58% (RSD=1.81%, $n=9$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The established standard can be used for quality evaluation of *A. officinalis* medicinal materials.

KEYWORDS *Asparagus officinalis*; Quality standards; TLC; UV-visible spectrophotometry; Sarsasapogenin

石刁柏为百合科植物石刁柏 *Asparagus officinalis* L.的嫩茎,又名芦笋、龙须菜^[1]等,主要含有皂苷、黄酮、糖、咖啡酸及维生素等成分。用石刁柏制成的乳宁片、芦笋胶囊、芦笋口服液等具有清热利湿、活血散结等功效,可用于治疗乳房小叶增

生、乳痈、胃癌、肝炎、银屑病、高脂血症等,并对淋巴肉瘤、膀胱癌等有一定疗效^[2]。

《中国药典》各版均未收录石刁柏,地方标准中也仅有《浙江省中药材标准》有记载^[3],包含其性状鉴别、薄层色谱(TLC)

似性,而不同区域不同产地的药材之间具有一定的联系。这些结论可为今后考察老鹳草药材的产地资源分布、生长适宜性等提供一定的参考数据,也可为如何确定药材的道地性提供一定的参考信息,为科学评价老鹳草药材的质量提供方法及参考依据。

参考文献

- [1] 刘娟,王良信.老鹳草的本草考证[J].中草药,1992,23(5):276.
- [2] 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,2010:113.
- [3] 吴悦涛,金哲雄.老鹳草中鞣质类化学成分及其药理活性

- 研究进展[J].黑龙江医药,2008,21(1):67.
- [4] 韩广轩,王立新,张卫东,等.中药老鹳草的研究概况[J].药学实践杂志,2001,19(1):31.
- [5] 魏群德,纳东荃,纳志云,等.老鹳草合剂治疗急性咽喉炎的疗效观察[J].中国中西医结合杂志,1998,18(2):12.
- [6] 刘岱琳,胡迎庆,刘成航,等.老鹳草粗提取物抑制大鼠巨噬细胞中一氧化氮发生的实验研究[J].武警医学,2003,14(11):18.
- [7] 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,2009:14.
- [8] 孙庆文,王悦云,徐文芬,等.道地药材黔党参的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2013,24(7):628.
- [9] 雷欣潮,杨焕琪,赖茂祥,等.广西不同产区两面针HPLC指纹图谱研究[J].中草药,2012,43(5):1003.

(收稿日期:2013-07-22 修回日期:2013-10-08)

[△] 基金项目:山西省中药材、中药饮片地方标准研究项目(No.2012011A)

* 副教授。研究方向:中药鉴定。电话:0351-2215815。E-mail:xsxwllf@163.com

[#] 通信作者:副教授。研究方向:中药鉴定。电话:0351-7820668。E-mail:laizhengliu@163.com

鉴别、水分检查和氮含量的限度^[4]。为了制订山西省中药材地方标准,笔者对栽培于山西省境内和流通于安徽亳州、河北安国等医药市场的10批石刁柏药材增加了显微鉴别、灰分检查和有效成分菝葜皂苷元的含量测定,以为石刁柏药材的质量评价提供依据。

1 材料

1.1 仪器

DMBA300-C型 Motic 300万像素数码一体化显微镜系统(麦克奥迪实业集团有限公司);DHG-9075A型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司);KQ500-B型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);QE-100型高速中药粉碎机(浙江省武义县屹立工具有限公司);HH-6型数显恒温水浴锅(金坛市杰瑞尔电器有限公司);硅胶G薄层板(100 mm×200 mm,青岛海洋化工厂,批号:20120418;青岛市基亿达硅胶试剂厂,批号:20110318);TU-1901型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);92SM-202A型电子分析天平[普利赛斯国际贸易(上海)有限公司]。

1.2 试剂

无水乙醇(分析纯,天津市大茂化学试剂厂,批号:20120510);冰乙酸(分析纯,天津市北辰方正试剂厂,批号:20100910);谷氨酸、菝葜皂苷元对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为140690-200401、110744-200407);水为纯化水,其余试剂均为分析纯。

1.3 药材

10批石刁柏样品,其中5批为采集、5批为购买,均经山西药科职业学院刘来正副教授鉴定为百合科植物石刁柏 *A. officinalis* L.的嫩茎^[5]。样品来源见表1。

表1 样品来源

Tab 1 Sample source

编号	产地	收集时间、方式	批号
1	山西太原	2012-08-17 购自太原美特好连锁超市股份有限公司	Sdb-1
2	山西太谷	2013-04-09 采集	Sdb-2
3	山西解州	2013-04-16 采集	Sdb-3
4	山西河津	2013-04-17 采集	Sdb-4
5	山西万荣	2013-04-18 采集	Sdb-5
6	山西永济	2013-04-20 采集	Sdb-6
7	广西合山	2013-05-03 购自安徽易元堂医药有限公司	Sdb-7
8	新疆伊宁	2013-06-03 购自安徽盛海堂中药饮片有限公司	Sdb-8
9	安徽阜南	2013-05-12 购自安徽省四达农药化工有限公司	Sdb-9
10	安徽淮北	2013-06-03 购自安徽天马中药饮片科技有限公司	Sdb-10

2 方法与结果

2.1 显微鉴别^[6]

石刁柏粉末呈棕黄色或棕绿色。导管直径10.5~130.4 μm,多见梯纹导管,少见孔纹、螺旋纹和环纹导管。偶见孔纹管胞和梯纹管胞,直径18.2~35.6 μm,纹孔直径2.2~4.8 μm。纤维成束或散在,直径8.5~13.1 μm,壁厚3.2~4.8 μm。薄壁细胞类方形、类多角形或不规则形,直径26.3~88.6 μm。茎表皮细胞类方形,多紧密排列。偶见气孔,由两个半月形的保卫细胞组成。偶见草酸钙针晶,成束或散在。偶见芽和鳞叶碎片。石刁柏的粉末显微图见图1。

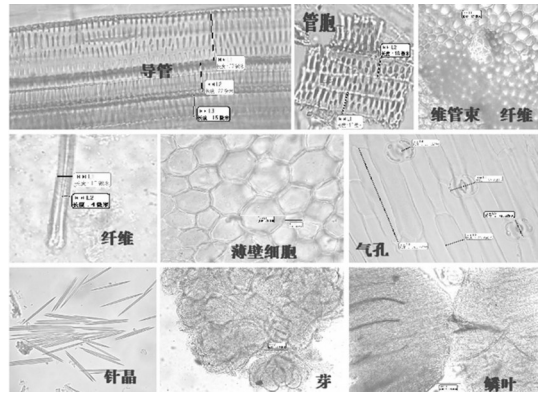


图1 石刁柏的粉末显微图

Fig 1 Microscopic identification of *A. officinalis* powder

2.2 TLC鉴别

取样品粉末2 g,加稀乙醇20 ml,超声处理(功率:500 W,频率:40 kHz)25 min,滤过,滤液蒸干,残渣加稀乙醇2 ml使溶解,作为供试品溶液。另取谷氨酸对照品10 mg,用60%乙醇制成每1 ml含1 mg的对照品溶液。照TLC法^[6]试验,吸取上述两种溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-无水乙醇-冰乙酸-水(8:2:2:3, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茚三酮试液,105 °C加热至斑点显色清晰。结果,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^[7]。石刁柏的TLC图见图2。

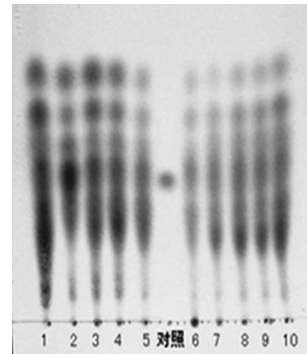


图2 石刁柏的TLC图

对照:谷氨酸对照品;1~10.石刁柏药材样品

Fig 2 TLC of *A. officinalis*

Control: glutamic acid control; 1-10. samples of *A. officinalis* medicinal materials

2.3 水分检查

照水分测定法^[6]试验。结果,10批样品中最高测定值为17.43%,最低为13.12%。以最高值上浮10%设为水分上限,暂定本品水分不得过19.0%。

2.4 灰分检查

照灰分测定法^[6]试验。结果,10批样品中,总灰分测定值最高为10.19%,最低为6.82%;酸不溶性灰分测定值最高为2.29%,最低为0.76%。以最高值上浮10%设为灰分上限,暂定本品总灰分不得过11.0%,酸不溶性灰分不得过2.5%^[5]。

2.5 菝葜皂苷元的含量测定^[8]

2.5.1 对照品溶液的制备 取菝葜皂苷元对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含20 μg的溶液,即得。

2.5.2 线性关系考察 精密量取对照品溶液2、3、4、5、6 ml,分别置具塞试管中,于水浴中挥干溶剂,精密加入5%茴香醛-冰醋酸溶液(5:95, V/V)0.2 ml、高氯酸1 ml,摇匀,置70~80 °C热水中保温15 min,取出,冰水冷却并转移至10 ml量瓶中,再以冰醋酸稀释至刻度,摇匀。以相应的试剂为空白,照紫外-可见分光光度法^[9]试验,于570 nm波长处测定吸光度。以吸光度(y)为纵坐标,进样量(x)为横坐标,绘制标准曲线^[9],得回归方程为 $y=6.459 2x-0.033 4$ ($r=0.999 6, n=5$)。结果表明,菝葜皂苷元进样量在0.037 3~0.111 8 mg范围内与吸光度呈良好的线性关系。

2.5.3 供试品溶液的制备 取本品细粉约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,称定质量,超声提取(功率:300 W,频率:50 kHz)30 min,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 ml,回收溶剂至干,残渣加水10 ml使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取5次,每次10 ml,合并正丁醇液,用氨试液洗涤2次,每次5 ml,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至25 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.5.4 精密度试验 精密量取对照品溶液4 ml,按“2.5.2”项下方法显色,于570 nm波长处测定吸光度,重复5次。结果, RSD=0.18%($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.5.5 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,分别于0、15、30、45、60 min按“2.5.2”项下方法显色,于570 nm波长处测定吸光度。结果, RSD=0.99%($n=5$),表明供试品溶液在60 min内稳定性良好。

2.5.6 重复性试验 取同一批次石刁柏样品粉末适量,共6份,分别按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.2”项下方法显色,于570 nm波长处测定吸光度,计算样品含量。结果,样品中菝葜皂苷元的平均质量分数为0.92%, RSD=1.86%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.5.7 加样回收率试验 称取已知含量的石刁柏药材粉末9份,每份0.25 g,精密称定,分别精密加入适量菝葜皂苷元对照品,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.2”项下方法显色,于570 nm波长处测定吸光度,计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=3$)
Tab 2 Results of recovery test($n=3$)

序号	称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1	0.251 8	2.095	2.796	4.842	98.25		
2	0.251 1	2.089	2.796	4.861	99.15		
3	0.250 3	2.082	2.796	4.793	96.97		
4	0.250 5	2.084	1.864	3.981	101.76		
5	0.252 1	2.097	1.864	3.922	97.93	99.58	1.81
6	0.251 7	2.094	1.864	3.952	99.67		
7	0.251 2	2.090	0.932	3.023	100.11		
8	0.250 5	2.084	0.932	3.013	99.70		
9	0.250 7	2.086	0.932	3.043	102.64		

2.5.8 样品含量测定 取10批不同来源的石刁柏药材粉末各适量,分别按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.2”项下方法显色,于570 nm波长处测定吸光度,计算样品中菝葜皂苷元的含量。结果,编号为1~10的样品中菝葜皂苷元的平均

质量分数依次为0.29%、1.33%、1.21%、0.98%、0.92%、0.54%、0.84%、1.04%、0.91%、0.77%。可见,不同来源样品中所含菝葜皂苷元的含量差异较大,本方法能准确反映石刁柏的内在质量。

3 讨论

本研究是山西省中药材、中药饮片地方标准的研究内容之一。课题组赴山西省各地共采集到6批样品,选择其中有代表性的5批进行了试验;再从药材批发市场收集到6批样品,经鉴定有1批为伪品,对另外5批进行了试验。

文献记载石刁柏嫩茎茎尖即芽群部位的有效成分含量高^[10]。笔者从药材市场采购的石刁柏均为农户加工芦笋后裁剪下来的副产品,即嫩茎的基部;从基地采集的石刁柏为完整的嫩茎。在性状鉴定和显微观察时,以能观察到芽群结构者为佳。

有文献指出石刁柏中分离得到的皂苷可抑制小鼠乳腺癌、胰腺癌和子宫颈癌的生长^[11],故本研究以菝葜皂苷元为对照品,采用紫外-可见分光光度法测定其含量,能够有效控制石刁柏的内在质量。研究中考察了高氯酸、香草醛-硫酸、茴香醛-硫酸、茴香醛-冰醋酸-高氯酸、茴香醛-冰醋酸-高氯酸等显色剂的显色效果和稳定性,最终确定以茴香醛-冰醋酸-高氯酸显色,供试品与对照品的最大吸收波长一致。

综上所述,本研究所建质量标准可用于石刁柏药材的质量评价。

参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典:上册[M]. 2006年版. 上海:上海科学技术出版社, 2006:830-831, 1 079.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第8卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:71-73.
- [3] 黎跃成. 药材标准品种大全:国标、部标及全国各省、市、自治区药材标准[S]. 成都:四川科学技术出版社, 2001:95.
- [4] 浙江省药品监督管理局. 浙江省中药材标准[S]. 2000:23.
- [5] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志:第15卷[M]. 北京:科学出版社, 2004:118-120.
- [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18、附录34、附录52、附录53、附录30.
- [7] 梁丽娟,董婷霞,詹华强,等. 射干的质量标准研究[J]. 中国药房, 2013, 24(11):1 023.
- [8] 赵建华,宋擎,汪素芳,等. 芦笋总皂苷含量测定的比色法研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8):1 962.
- [9] 张若洁,徐永霞,王鲁峰,等. 大孔树脂纯化芦笋总皂苷的工艺研究[J]. 中草药, 2012, 43(6):1 097.
- [10] 李素珍. 芦笋不同色泽和部位嫩茎的化学成分分析[J]. 浙江农业学报, 1994(1):54.
- [11] 孙春艳,赵伯涛,郁志芳,等. 芦笋的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5):1.

(收稿日期:2014-04-03 修回日期:2014-06-02)