

# 地稔药材的质量标准研究

杨建冬\*, 邓茂芝(宜春市食品药品检验所, 江西 宜春 336000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0818-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.34

**摘要** 目的:为建立地稔药材的质量标准提供依据。方法:对地稔药材的性状、显微特征进行鉴别,采用薄层色谱(TLC)法对地稔药材中的没食子酸进行定性鉴别,并采用高效液相色谱法测定药材中没食子酸的含量。色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-0.05%磷酸溶液(2:98, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为272 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:没食子酸的TLC图斑点清晰,分离度好。没食子酸的进样量在5.596~139.9 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 6$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率为97.33%,RSD为1.55%( $n=6$ )。结论:该方法操作简便、结果准确、重复性好,适用于地稔药材的质量控制。

**关键词** 地稔;没食子酸;薄层色谱法;高效液相色谱法;含量测定

## Study on Quality Standard of *Melastoma dodecandrum*

YANG Jian-dong, DENG Mao-zhi (Yichun Institute for Food and Drug Control, Jiangxi Yichun 336000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard of *Melastoma dodecandrum*. METHODS: The property and microscopic characteristics of *M. dodecandrum* were identified. TLC method was adopted to identify gallic acid in *M. dodecandrum* qualitatively. The content of gallic acid in *M. dodecandrum* was determined by HPLC. The determination was performed on Diamonsil C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-0.05% phosphoric acid (2:98, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 272 nm, the column temperature was 25 ℃, and sample size was 10 μl. RESULTS: TLC spots of gallic acid were clear and well-separated. The linear range of gallic acid were 5.596-139.9 μg ( $r=0.999\ 6$ ) with average recovery of 97.33% (RSD=1.55%,  $n=6$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and suitable for the quality control of *M. dodecandrum*.

**KEYWORDS** *Melastoma dodecandrum*; Gallic acid; TLC; HPLC; Content determination

地稔为野牡丹科植物地稔 *Melastoma dodecandrum* 的干燥全草,收载于2004年版《广东省中药材标准》(第一册)以及2003年版《贵州省中药材标准》中。其性味平、甘、淡、涩,有清热解毒、凉血、祛风利湿、活血补血的功用,主要用于肾炎、痢疾、流行性脑脊髓膜炎、月经过多、月经不调、急性扁桃体炎、肠胃炎、尿路感染、外伤出血、脱肛、疮痈肿毒等症。江西为地稔药材主产地之一,但目前尚无地稔药材的质量标准。为加强对地稔药材的质量控制,本研究对地稔药材的性状、显微鉴别进行了研究,采用薄层色谱(TLC)法对地稔药材中的没食子酸进行了定性鉴别,并采用高效液相色谱(HPLC)法测定了药材中没食子酸的含量,以为制订江西地方药材地稔的质量标准提供依据。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

1200型HPLC仪(美国安捷伦公司);BP211D电子天平(德国赛多利斯公司)。

#### 1.2 试剂

没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110831-201204,纯度:89.9%);硅胶GF254(青岛海洋化工有限公司)甲醇、磷酸为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为超纯水。

#### 1.3 药材

地稔药材均采自江西省,采集时间分别为20130901、

20130902、20130903、20130904,并经宜春市食品药品检验所中药室副主任中药师黄河生鉴定为野牡丹科植物地稔 *M. dodecandrum*。

### 2 性状鉴别

本品多卷曲成团;根细小而弯曲,有的具木质根茎,枝近无毛或被疏粗毛;叶对生,黄绿色或淡褐绿色,呈卵形或椭圆形,长1.0~3.5 cm,宽5~25 mm,先端渐尖,基部浑圆,叶片主脉3~5条;除上面边缘和背脉上具有少量疏粗毛外,其余均洁净;叶柄长2~4 mm,被粗毛;花、果少见;质脆,易破碎;气无,味微甘、酸、涩。

### 3 显微鉴别

本品粉末呈黄棕色,显微镜下可见栅栏组织细胞排列整齐,长约85 μm;海绵组织细胞类圆形或类椭圆形,垂周壁微弯曲;单细胞非腺毛长35~65 μm;腺毛浅红棕色,长20~70 μm,腺头多为10个细胞,直径约20 μm,腺柄具细胞1~3个;叶肉组织中散有许多草酸钙簇晶,直径20~30 μm,详见图1。

### 4 TLC鉴别<sup>[1-2]</sup>

取本品粉末2 g,置于圆底烧瓶中,加水50 ml、盐酸2 ml,加热回流1 h,趁热滤过,滤液用乙酸乙酯提取2次,每次25 ml,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加乙酸乙酯1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取没食子酸对照品适量,加乙酸乙酯制成每1 ml含没食子酸1 mg的溶液,作为对照品溶液。照TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VI]试验,吸取上述溶液各5 μl,分别点于同一0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶

\* 副主任中药师。研究方向:中药质量研究。E-mail:1143791895@qq.com

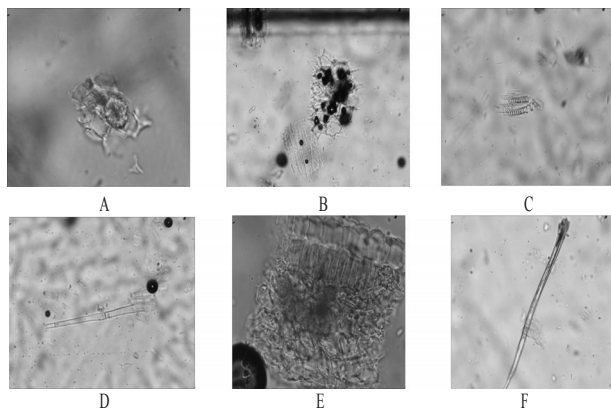


图1 地稔粉末显微图

A. 草酸钙簇晶; B. 海绵组织; C. 导管; D. 腺毛; E. 栅栏组织; F. 非腺毛

Fig 1 Micrograph of *M. dodecandrum* powder

A. clusters of calcium oxalate; B. spongy tissue; C. catheter; D. glandular hairs; E. palisade; F. non-glandular hairs

GF254薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(254 nm)下检视;再喷以1%三氯化铁乙醇溶液,置于日光下检视。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。没食子酸的TLC图见图2。

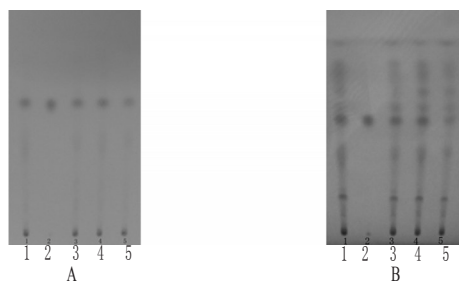


图2 没食子酸的TLC图

A. 日光下检视; B. 紫外光灯(254 nm)下检视; 1, 3~5. 供试品; 2. 对照品

Fig 2 TLC of gallic acid

A. under sunlight; B. under UV lamp (254 nm); 1, 3-5. test samples; 2. substance control

## 5 含量测定

### 5.1 色谱条件<sup>[3-7]</sup>

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.05% 磷酸溶液(2:98, V/V); 检测波长: 272 nm; 柱温: 25 °C; 流速: 1.0 ml/min; 进样量: 10 μl。色谱见图3。

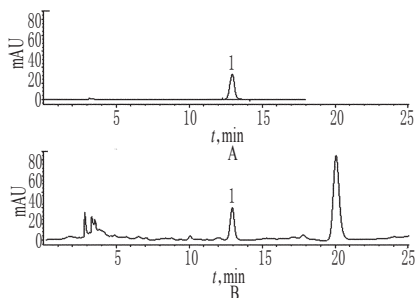


图3 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 没食子酸

Fig 3 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; 1. gallic acid

## 5.2 溶液的制备

5.2.1 对照品溶液 精密称取没食子酸对照品 15.56 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 0.279 8 mg/ml 的对照品溶液。

5.2.2 供试品溶液 取本品粉末(过 2 号筛)约 2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 ml、盐酸 2 ml, 称定质量, 加热回流 2 h, 取出, 放冷, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。

## 5.3 线性关系考察

精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 ml, 分别置于 25 ml 量瓶中, 另精密吸取对照品溶液 3、5 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。分别精密吸取上述 7 种质量浓度的溶液各 10 μl, 按“5.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以没食子酸的进样量(x, mg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程  $y=33.361x-32.635$  ( $r=0.999 6$ )。结果表明, 没食子酸的进样量在 5.596~139.9 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

## 5.4 精密度试验

取对照品溶液适量, 按上述色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积。结果,  $RSD=1.47%$  ( $n=6$ ), 表明仪器精密度良好。

## 5.5 稳定性试验

取按“5.2.2”项下方法制备的同一供试品溶液适量, 于配制 0、2、4、6、8、12 h 时按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果,  $RSD=1.35%$  ( $n=6$ ), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

## 5.6 重复性试验

精密称取同一样品适量, 共 6 份, 按“5.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算没食子酸的含量。结果, 没食子酸的平均含量为 0.65 mg/g,  $RSD=1.20%$  ( $n=6$ ), 表明该方法重复性良好。

## 5.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品约 1 g, 共 6 份, 分别精密加入没食子酸对照品适量, 按“5.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算加样回收率, 结果见表 1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.652 4	0.699 5	1.325 6	96.24	97.33	1.55
0.665 0	0.699 5	1.330 6	95.15		
0.656 2	0.699 5	1.351 7	99.43		
0.697 4	0.699 5	1.387 9	98.71		
0.695 0	0.699 5	1.387 5	99.00		
0.696 5	0.699 5	1.380 0	97.71		

## 5.8 样品含量测定

取 4 批样品(采集时间分别为 20130901、20130902、20130903、20130904)各适量, 按“5.2.2”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, 并计算样品含量。结果, 4 批样品的含量分别为 0.64、0.93、0.69、0.68 mg/g。

## 6 讨论

### 6.1 检测波长的选择

在二极管阵列检测器图谱上查看没食子酸对照品的光谱

# 湘产5种鼠曲草茎叶组织形态学对比研究

刘敏\*,贺卫军,彭帅,王哲明,刘塔斯#,陈乐(湖南中医药大学药学院,长沙 410208)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0820-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.35

**摘要** 目的:为制订鼠曲草的质量标准及进一步开发利用鼠曲草提供依据。方法:取匙叶鼠曲草、细叶鼠曲草、宽叶鼠曲草、秋鼠曲草和鼠曲草5种植株的茎、叶进行徒手切片,采用显微镜数码成像系统进行显微鉴定,并对其组织形态学特征进行比较。结果:5种鼠曲草植物性状和组织构造存在明显的差异,主要表现在茎质地、大小、花序、叶片大小、形状、性味等方面;其茎、叶的横切面组织各有不同,其中以气孔特征最为显著。结论:5种鼠曲草在性状和显微方面有较大区别。其茎、叶的质地和叶表面有无气孔、气孔长宽、气孔指数、韧皮部与木质部之比等特征可作为鼠曲草的鉴定依据。

**关键词** 鼠曲草;匙叶鼠曲草;细叶鼠曲草;宽叶鼠曲草;秋鼠曲草;性状特征;显微特征;气孔

## Morphological Comparison of the Stems and Leaves of 5 Kinds of *Gnaphalium affine* from Hunan Province

LIU Min, HE Wei-jun, PENG Shuai, WANG Zhe-ming, LIU Ta-si, CHEN Le (College of Pharmacy, Hunan University of TCM, Changsha 410208, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To provide reference for the establishment of quality standard, the utilization and development of *Gnaphalium affine*. METHODS: The stems and leaves of *G. pensylvanicum*, *G. japonicum*, *G. adnatum*, *G. hypoleucum* and *G. affine* were sliced up by bare hand. Microscopic identification was conducted by microscopic digital imaging systems, and morphological characteristics were compared. RESULTS: There were significant differences in the property of 5 kinds of *G. affine* in terms of stem texture, size, inflorescence, leaves size, shape, property and flavor, etc. The cross section of stem and leaves were different, especially in characters of stoma. CONCLUSIONS: These items can be used as identification bases of *G. affine*, such as the texture of stems and leaves, stoma or no stoma on the surface of leaves, stomatal width, stomatal index, phloem-xylem ratio and so on.

**KEYWORDS** *Gnaphalium affine*; *Gnaphalium pensylvanicum*; *Gnaphalium japonicum*; *Gnaphalium adnatum*; *Gnaphalium hypoleucum*; Property character; Microscopic character; Stoma

鼠曲草又名佛耳草、追骨风、清明蒿<sup>[1]</sup>,收载于《上海市中药材标准》(1994年版)<sup>[2]</sup>,为菊科植物鼠曲草 *Gnaphalium af-*

*fine* D.的干燥全草,具有祛痰、止咳、平喘、祛风湿的功效<sup>[3]</sup>,临床一般用于治疗咳嗽、痰喘、风湿痹痛等症。《湖南种子植物总

扫描图,发现其在220 nm与270 nm处均有最大吸收。经考察,虽然其220 nm波长处的峰响应值较大,但在保留时间3 min处有杂质吸收峰,且220 nm波长靠近紫外的末端吸收区。为了减小吸收干扰,故选择272 nm作为检测波长,在此检测波长下对照品和供试品的色谱峰效果均较好。

### 6.2 提取方法的选择

由于没食子酸为酸性成分,其在自然环境中以盐的形式存在。依据其溶解性能,笔者考察了以盐酸酸化的50%甲醇、酸性乙醇等提取溶剂,结果酸性甲醇作溶剂的提取效果最好。笔者又考察了超声、加热回流等不同提取方法,结果发现超声提取法提取效果低于加热回流提取法的效果,故最终选择加热回流的提取方法。

综上所述,本研究操作方法简便、结果准确、重复性好,适用于地稔药材的质量控制。

### 参考文献

- [1] 广东省食品药品监督管理局.广东省中药材标准:第一册[S].广州:广东科技出版社,2004.
- [2] 孙亦群,曾惠芳,麦思慧,等.薄层色谱法鉴别紫地合剂及4种止血方剂中的地稔[J].现代医院,2010,11(10):83.
- [3] 饶珠明.HPLC法测定地稔中没食子酸的含量[J].药物研究,2006,24(3):152.
- [4] 唐迈,廖保珍,林绥,等.地稔的化学成分研究[J].中草药,2008,39(29):1.
- [5] 李才堂,宋友昕,李晶,等.高效液相色谱法测定地稔药材中没食子酸含量[J].江西中医学院学报,2005,4(17):37.
- [6] 戚重桓,倪观锋.高效液相色谱法测定地稔中没食子酸的含量[J].浙江中医杂志,2010,45(3):220.
- [7] 张超,方岩雄.中药地稔的化学成分研究[J].中国中药杂志,2003,28(5):429.

(收稿日期:2014-08-07 修回日期:2014-11-11)

(编辑:孙冰)

\* 硕士研究生。研究方向:中药资源与质量。E-mail:827845004@qq.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药资源与质量。电话:0731-8458234。E-mail:liutasi@126.com