

广升麻质量标准研究

蔡巧燕, 曾建伟, 林 珊, 吴锦忠

(福建中西医结合研究院, 福建 福州 350108)

摘要: 目的 建立广升麻药材的质量标准。方法 分别采用显微观察、薄层色谱法和反相高效液相色谱法, 开展广升麻粉末特征鉴别、蜕皮甾酮薄层色谱鉴别及其含量测定的研究。以 RP-HPLC 法测定广升麻蜕皮甾酮含量, 色谱柱为 Sepax Sapphire-C₁₈ 柱(250 mm×4.60 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水(45:55), 检测波长: 248 nm, 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30℃。结果 广升麻药材粉末菊糖居多, 特征性明显; 蜕皮甾酮薄层色谱斑点清晰, 鉴别特征明显, 专属性强; 蜕皮甾酮在 0.1904 μg~2.0940 μg 间具有良好的线性关系($r=0.9999$); 平均回收率为 99.73%, RSD 为 2.57% ($n=6$), 重复性 RSD 为 0.64% ($n=6$)。结论 RP-HPLC 测定蜕皮甾酮含量, 测定方法操作简便, 重复性及稳定性好, 结果准确, 能有效控制广升麻中蜕皮甾酮的含量, 建议推荐为广升麻中蜕皮甾酮的质量控制方法。

关键词: 广升麻; 质量标准; 显微鉴别; 薄层色谱鉴别; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R282.710.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-5627(2011)04-0038-04

广升麻(*Radix Serratulae Chinensis*)为菊科植物麻花头 *Serratula chinensis* S. Moore 的干燥块根, 其味辛、苦, 性微寒; 归肺、胃经, 具有升阳、散风、解毒、透疹等功能^[1], 分布于广东、广西、福建、湖南等地, 在福建主要分布于闽西一带, 资源丰富。治疗麻疹、斑疹不透、久泻脱肛、子宫脱垂, 以及风热引起的牙痛、头痛等^[2], 民间上广升麻常被用作中药升麻(毛茛科)的代用品。因此有必要对广升麻进行质量标准研究, 规范该药材使用。迄今对广升麻的研究报道甚少, 已知含有蜕皮甾酮类成分^[3-4]、神经酰胺类化合物^[5]、脑苷脂^[6]、挥发油^[7]等化学成分。在药理上, 广升麻根部药用部位主要有降低胆固醇^[8]和治疗脑血管疾病的作用, 并已证实与其含有蜕皮甾酮(ecdysterone)类化合物有关^[3]。目前对其质量评价方法的研究未见报道, 为了有效控制其药材质量, 本文从显微鉴别、薄层色谱鉴别、蜕皮甾酮的含量测定等方面进行研究, 为广升麻的质量评价提供科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), CP2245D 微量天平(德国 Sartorius 公司), RE-52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),

硅胶 GF₂₅₄ 板(青岛海洋化工厂), KQ500 超声波清洗仪(昆山市超声波仪器有限公司), ZF-1 多功能紫外分析仪(上海宝山顾村电光仪器厂), Milli-Q 超纯水系统(美国密理伯公司), TS-100F 倒置显微镜(日本尼康公司)。

1.2 试药 蜕皮甾酮对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 111638-200602); 广升麻药材(采自福建省龙岩市上杭县, 经福建中医药大学药学院杨成梓副教授鉴定为 *Serratula chinensis* S. Moore 的干燥块根), 批号: 20080822、20090211、20091203; 甲醇(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司, 批号 T20100126), 其他化学试剂均为分析纯, 高纯水由实验室制备。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别 取广升麻药材, 粉碎过 60 目筛, 取适量作水合氯醛装片, 置显微镜下观察。本品粉末淡黄色, 菊糖众多, 无色透明, 多为不规则块状, 大小不一, 少数呈扇形或类圆形。木纤维成束、壁厚。木栓细胞多角形, 具厚的褐色细胞壁。导管有网纹、梯纹、螺纹, 以网纹和梯纹居多; 有少量石细胞, 分泌管碎片不规则状。

2.2 广升麻的薄层鉴别 称取广升麻粉末 1 g,

收稿日期: 2010-07-27

基金项目: 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室开放课题(2008J1004-42)、陈可冀中西医结合发展基金(CKJ2008079)、福建中医药大学校管课题(X2008010)

作者简介: 蔡巧燕(1981—), 女, 医学硕士, 主要从事中药化学、中药药理研究。E-mail: cqy2005899@163.com

通讯作者: 吴锦忠(1965—), 男, 博士, 教授。E-mail: jinzhongfj@126.com

置具塞锥形瓶中,加甲醇 50 mL,回流提取 60 min,放冷,滤过,滤液浓缩至 2 mL,作为供试品溶液。另取蜕皮甾酮对照品,加甲醇配制成 0.72 mg/mL 的对照品溶液。吸取上述供试品溶液 2 μ L、对照品溶液 5 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以氯仿-甲醇(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上($R_f=0.42$),显示相同的暗斑,见图 1。

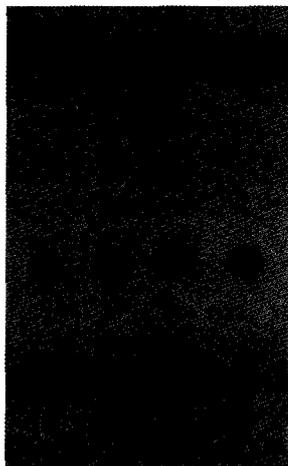


图 1 广升麻药材的薄层鉴别图谱

注:1. 蜕皮甾酮对照品;2. 样品 1;3. 样品 2;4. 样品 3

2.3 蜕皮甾酮的含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取蜕皮甾酮对照品 9.52 mg,置 50 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶液稀释至刻度,摇匀;精密量取 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶液稀释至刻度,即得浓度为 95.2 μ g/mL 的蜕皮甾酮对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品药材粉碎,过三号筛,取本品适量测定水分(《中国药典》2005 年版一部附录 IX H 第一法),测得广升麻含水量为 11%($n=4$)。另精密称取 1 g,置具塞锥形瓶中,加入甲醇 50 mL,加热回流提取 60 min,滤过,冷却,再用甲醇定容至 50 mL,摇匀,即得供试品溶液。

2.3.3 测定波长的选择 用 DAD 二极管阵列检测器分析了蜕皮甾酮对照品色谱峰和广升麻供试品中所测成分相应色谱峰的紫外光谱基本一致,均在 248 nm 处有最大吸收,故选定 248 nm 作为检测波长。

2.3.4 色谱条件 色谱柱为 Sepax Sapphire-C18 柱(250 mm \times 4.60 mm,5 μ m),流动相:甲醇-水(45:55),检测波长:248 nm,流速:1.0 mL/min,进

样量:10 μ L,柱温:30 $^{\circ}$ C。色谱图见图 2、图 3。

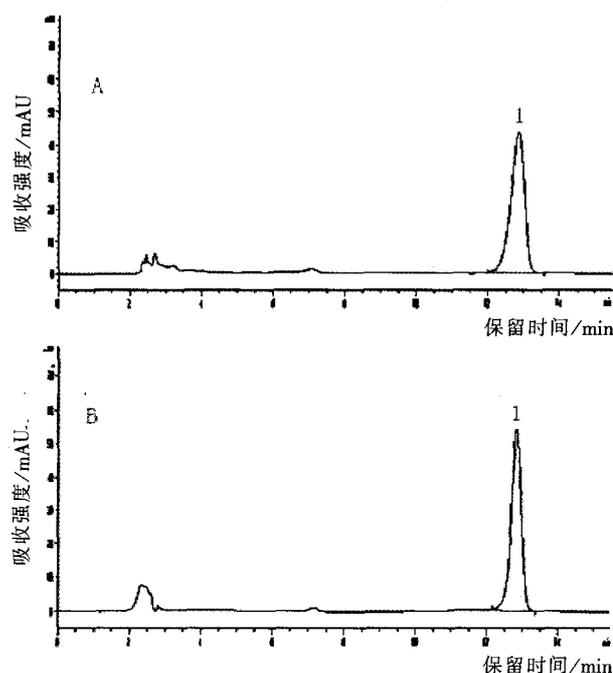


图 2 蜕皮甾酮 RP-HPLC 色谱图

注:A. 标准品;B. 广升麻样品;1. 蜕皮甾酮。

2.3.5 标准曲线的制备 分别精密量取浓度为 95.2 μ g/mL 蜕皮甾酮对照品溶液 2、6、10、14、18、22 μ L,按上述色谱条件进样,测定峰面积,以峰面积 Y 为纵坐标,进样量 X(μ g)为横坐标,绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程, $Y=1.1707X-10.1982$, $r=0.9999$,结果表明,蜕皮甾酮在 0.1904 μ g~2.0940 μ g 间具有良好的线性关系。

2.3.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,在上述色谱条件下,分别于 0、4、8、10、12、24 h 进行分析,得出广升麻蜕皮甾酮的峰面积平均值为 1457.89, RSD 为 1.02%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 精密度试验 精密吸取同一浓度的供试品溶液 10 μ L,重复进样 6 次,记录色谱峰面积,测得蜕皮甾酮峰面积平均值为 1099.17, RSD 为 0.19%,表明方法精密度好。

2.3.8 重复性试验 取同一批样品按供试品制备项下的方法制备 6 份,进样 10 μ L,记录色谱峰面积,计算蜕皮甾酮平均含量为 0.71%, RSD 为 0.64%,表明方法重现性好。

2.3.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 0.5 g,加入对照品溶液(0.3 mg/mL)10 mL,按样品制备方法制备,测定含量,重复 6 份,计算回收率,结果见表 1。

表 1 广升麻中蜕皮甾酮加样回收率 ($n=6$)

称样量/g	样品含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.505	2.322	3.02	5.407	102.84	99.68	2.65
0.504	2.317	3.02	5.340	100.75		
0.498	2.290	3.02	5.178	96.24		
0.500	2.299	3.02	5.248	98.28		
0.505	2.323	3.02	5.388	102.19		
0.499	2.295	3.02	5.228	97.77		

表 2 广升麻药材中蜕皮甾酮的含量 ($n=3$)

样品批号	蜕皮甾酮含量/(按干燥品计算)/%	RSD/%
20080822	0.692	0.72
20090211	0.707	1.23
20091203	0.723	0.94

2.3.10 样品测定 取 3 个不同批号样品,按 2.3.2 法制备后测定含量。

3 讨论

尽管化学方法广泛用于药材质量标准的建立,但传统的显微鉴别和薄层鉴别因能客观反应药材的特征而被关注^[9]。由于广升麻迄今尚未见有传统的鉴别方法,故鉴别指标不失为重要的参考指标。蜕皮甾酮具有促进蛋白质的合成,抗脂质过氧化,抗内皮细胞损伤、调节基因表达、降胆固醇等作用^[10-11],是广升麻中主要活性成分,含量较高。鉴于广升麻的蜕皮甾酮是治疗脑血管疾病的有效成分^[3],因此薄层色谱鉴别和含量测定选择蜕皮甾酮作为广升麻品质评价指标之一。目前,广升麻未列入《中国药典》。

经过比较不同的提取方法(索式提取 6 h、加热回流提取 60 min、超声提取 30 min)、不同的提取溶剂(甲醇、乙醇、水)对提取效果的影响,结果表明甲醇回流提取 60 min 时蜕皮甾酮的提取率最高;不同的料液比(1:10、1:30、1:50、1:70、1:90)显示 1:50 时提取效果最好。因此实验选择以甲醇为溶剂,1:50 的料液比,加热回流提取 60 min 为提取条件。在色谱条件的选择上经多次试验摸索,以甲醇-水(45:55)为流动相,供试品进样后基线平稳,分离度较好。

广升麻在福建较多,民间疗效确切,有着潜在

的开发价值。广升麻质量标准的建立,将为开发利用广升麻资源提供依据。

致谢:本实验在国家中医药管理局中药生药学三级实验室,福建省卫生厅中药生药学重点实验室,福建省高校中西医结合重点实验室,福建省中西医结合老年性疾病重点实验室内完成,由中药化学重点学科和福建省高校重点建设经费资助。

参考文献:

- [1] 吴征镒. 新华本草纲要[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1990:462.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1977:234-235.
- [3] 黄驰. 广升麻的提取物、其制备方法及其用途: 中国, 200410014710.6[P]. 2006-03-22.
- [4] 凌铁军, 马文哲, 魏孝义. 华麻花头根中的蜕皮甾酮类成分[J]. 热带亚热带植物学报, 2003, 11(2):143-147.
- [5] 凌铁军, 吴萍, 刘梅芳, 等. 华麻花头根中的神经酰胺成分[J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13(5):403-407.
- [6] TIEJUN LING, TAOXIA, XIAOCHUN WAN, et al. Cerebrosides from the Roots of *Serratula chinensis*[J]. *Molecules*, 2006, 11(9):677-683.
- [7] 叶华, 周瑾, 张文清. 广东升麻挥发油的 GC-MS 联用分析[J]. 福建中医药, 2006, 37(3):50-51.
- [8] 《广东中药志》编辑委员会. 广东中药志(第 1 卷)[M]. 广州:广东科技出版社, 1996:225.
- [9] 卢伟. 小风鼓草的性状及显微鉴别[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(23):2856-2856.
- [10] MICHAEL D, COURREUR T, LENAERTS V, et al. Effects of ecdysterone on the differentiation of normal human keratinocytes in vitro[J]. *Eur J Dermatol*, 1994, 4(7):558-561.
- [11] 吴旭, 石富胜, 梁自文. 蜕皮甾酮促进缺血心肌再血管化的实验研究[J]. 解放军药理学学报, 2001, 17(5):239-241.

HPLC 法测定复方泽泻滴丸中 23-乙酰泽泻醇 B 的含量

何丽君¹, 马少丹², 郑芳¹, 陈小雁², 苏桂花², 阮时宝²

(1. 福建中医药大学附属人民医院, 福建 福州 350004; 2. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350108)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定复方泽泻滴丸中 23-乙酰泽泻醇 B 含量的方法。方法 采用岛津 LC-10AT 依利特 Hypersil C₁₈ 色谱柱(5 μm, 4.6 mm×250 mm); 以乙腈:水=90:10 为流动相; 流速为 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长为 208 nm; 柱温:30℃。结果 23-乙酰泽泻醇 B 在 0.012~0.12 mg/mL 范围与峰面积呈良好的线性关系。平均加样回收率为 100.24%, RSD% 为 1.21%(n=9)。结论 该方法灵敏简便, 快速可靠, 可用于复方泽泻滴丸的质量控制。

关键词: 复方泽泻滴丸; 23-乙酰泽泻醇 B; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R286.0 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-5627(2011)04-0041-04

泽泻汤出自张仲景《金匱要略》, 为治疗梅尼埃病的常用效方, 方中泽泻、白术的剂量配比为“泽泻五两、白术二两”, 二药的比例关系为 5:2^[1]。复方泽泻滴丸是按上述比例使用 CO₂ 超临界萃取有效成分, 浓缩成浸膏再添加辅料制备而成的滴丸^[2]。方中重用泽泻为君, 现代研究发现泽泻中 23-乙酰泽泻醇 B 含量较高且稳定, 检测专属性好, 方法可靠^[3], 其含量可以体现泽泻药材的品质优劣, 故可用 HPLC 法测定泽泻的主要成分 23-乙酰泽泻醇 B 的含量作为复方泽泻滴丸的质量控制指

标。实验结果表明本方法准确, 操作简单快速, 重现性好。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(岛津 LC-10AT 型双泵高效液相色谱仪大连依利特分析仪器有限公司); 超声清洗仪为 KQ-500E 型超声波清洗器; 超纯水器(Milipore); 赛多利斯 CP225D 电子天平。

1.2 试剂与试剂 对照品 23-乙酰泽泻醇 B(上海海灿生物科技有限公司, HPLC ≥ 98%, 批号: 080603); 复方泽泻滴丸(课题组自制), 甲醇色谱

收稿日期: 2011-01-12

基金项目: 福建省自然科学基金课题(2009J01166)、福建省科技厅科研课题(2008Y0046)

作者简介: 何丽君(1973-), 女, 副主任中药师, 在职研究生, 主要从事医院药学工作。

通讯作者: 阮时宝(1949-), 男, 教授。

Studies on Quality Standard of Radix Serratulae Chinensis

CAI Qiaoyan, ZENG Jianwei, LIN Shan, et al

(Fujian Academy of Integrative Medicine, FUTCM, Fuzhou, Fujian 350108, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish the quality standard of Radix Serratulae Chinensis. **Methods** The micromethod and TLC were used for qualitative identification. Meanwhile, a RP-HPLC analysis was applied for quantitative determination of ecdysterone. The analysis was carried on Sepax Sapphire-C₁₈ column (250 mm×4.60 mm, 5 μm), with mobile phase consisted of methanol-water solution (45:55) at a flow rate of 1.0 mL/min and the detective wavelength was 248 nm, the column temperature is 30℃. **Results** Kinds of inulins obviously distributed in Radix Serratulae Chinensis, the characteristic of identification by TLC was distinct and highly specific. The linear range of ecdysterone was 0.1904-2.0940 μg (r=0.9999), the average recovery was 99.73%, RSD was 2.57% (n=6), and repetition RSD was 0.64% (n=6). **Conclusion** RP-HPLC analysis can be applied for determination of ecdysterone, and the method is simple, accurate and reproducible, and suitable for the quality control of Radix Serratulae Chinensis.

KEY WORDS: Radix Serratulae Chinensis; quality standard; microscopic identification; TLC; RP-HPLC