

玉竹的质量控制方法

刘恩明, 戚进, 余伯阳*

(中国药科大学中药复方研究室, 南京 211198)

[摘要] **目的:**建立玉竹薄层色谱鉴别方法,并以玉竹中含有的主要甾体皂苷类成分为指标建立含量测定的方法,对玉竹质量进行有效控制。**方法:**采用薄层色谱法对玉竹进行真伪鉴别;采用 HPLC-ELSD 对其皂苷类成分(25 S/R)-spirost-5-ene-3 β -ol 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside(简称 POD I)进行含量测定。薄层色谱条件:3个展开系统①石油醚-三氯甲烷-甲醇-甲酸(1:9:0.65:0.05);②三氯甲烷-丙酮-甲酸(7:1.1:0.05);③环己烷-乙酸乙酯-正丁醇-甲酸(5:2:0.3:0.03)。显色剂1%铁氰化钾溶液和1%三氯化铁乙醇溶液1:1混合。HPLC-ELSD条件:Agilent ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈-甲醇-水(48:5:47),流速1.0 mL \cdot min⁻¹,进样量10 μ L,检测器ELSD,雾化气N₂,流速1.6 L \cdot min⁻¹,漂移管温度42.6 $^{\circ}$ C, Gain值为4。**结果:**薄层色谱能区分玉竹及伪品;POD I在0.514 5~9.261 0 μ g线性关系良好($r=0.999 7$),平均回收率为103.09%,RSD 1.52%。**结论:**该方法简便、准确、可靠,可以为更有效的控制玉竹质量提供依据。

[关键词] 玉竹;薄层色谱;高效液相色谱-蒸发光散射检测;质量控制

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0074-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170074

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140715.1334.011.html>

[网络出版时间] 2014-07-15 13:34

Quality Control Method of Polygonati Odorati Rhizoma

LIU En-ming, QI Jin, YU Bo-yang*

(Department of Complex Prescription of Traditional Chinese Medicine,
China Pharmaceutical University, Nanjing 211198)

[Abstract] **Objective:** This study was conducted to establish a systematic method for the qualitative and quantitative analysis of the major contents from Polygonati Odorati Rhizoma. **Method:** TLC method was used to identify the authenticity of Polygonati Odorati Rhizoma by TLC, while HPLC-LISD method was applied to determinate its saponins POD I by HPLC-ELSD. The TCL conditions included three developing systems: A consisted of petroleum ether, chloroform, methanol and formic acid with the ratio of 1:9:0.65:0.05, B consisted of chloroform, acetone and formic acid with the ratio of 7:1.1:0.05 and C consisted of cyclohexane, ethyl acetate, n-butanol and formic acid with the ratio of 5:2:0.3:0.03. Chromogenic agents were composed of 1% potassium ferricyanide and 1% mixing ferric chloride ethanol solution (1:1). Chromatographic separation was carried out on an Agilent ZORBAX SB-C₁₈ chromatographic column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m). The chromatographic conditions were as follows: flow rate of 1.0 mL \cdot min⁻¹; sample injection volume of 10 μ L; mobile phase A (acetonitrile-methanol) and mobile phase B (water). For ELSD detection, the operating parameters were as follows: N₂ low rate of 1.6 L \cdot min⁻¹; drift tube temperature of 42.6 $^{\circ}$ C; gain value of 4. **Result:** TLC method could be employed to distinguish Rhizoma Polygonati Odorati from its fake effectively. There was a good linear relationship for PODI in

[收稿日期] 20140307(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973965)

[第一作者] 刘恩明,在读硕士,从事资源化学研究,Tel:15051868573, E-mail:liuenming1982@sina.com

[通讯作者] *余伯阳,博士生导师,从事中药复方的质量标准与体内过程、中药活性成分的生物转化、中药资源化学、中药新药开发等研究,Tel:025-86185158, E-mail:boyangyucpu@163.com

the range of 0.514 5-9.261 0 μg ($r=0.999 7$), and the average recovery ($n=6$) was 103.09% with the RSD of 1.52%. **Conclusion:** The method was simple, accurate and reliable, and it might provide the basis for the more effective quality control of Polygonati Odorati Rhizoma.

[Key words] Polygonati Odorati Rhizoma; thin layer chromatography; HPLC-ELSD; quality control

玉竹又名葳蕤、地管子、尾参、铃铛菜^[1],为百合科植物玉竹的干燥根茎。性微寒,味甘,归肺、胃经。功效养阴润燥,生津止渴。2010年版《中国药典》玉竹项下包括性状、鉴别、检查以及含量测定等多项内容^[2],但是其中部分内容尚待进一步补充和完善,如玉竹药材的鉴别项下仅有横切面的显微特征鉴别,未见相关的薄层鉴别。由于玉竹及其混伪品的显微特征较为类似,仅根据显微鉴别很难将玉竹及其混伪品区别开来^[3]。玉竹主要活性成分分类群为皂苷类和糖类等^[4-6],而2010年版《中国药典》玉竹的含量测定项仅为以硫酸苯酚比色法测定玉竹多糖的含量^[2]。该方法虽能从一定程度上反映玉竹药材的质量,但缺乏专属性。因此,本研究建立了玉竹的薄层色谱鉴别方法,并针对玉竹中主要皂苷类成分建立了 HPLC-ELSD 含量测定方法,为玉竹的质量控制标准提供了参考。

1 材料

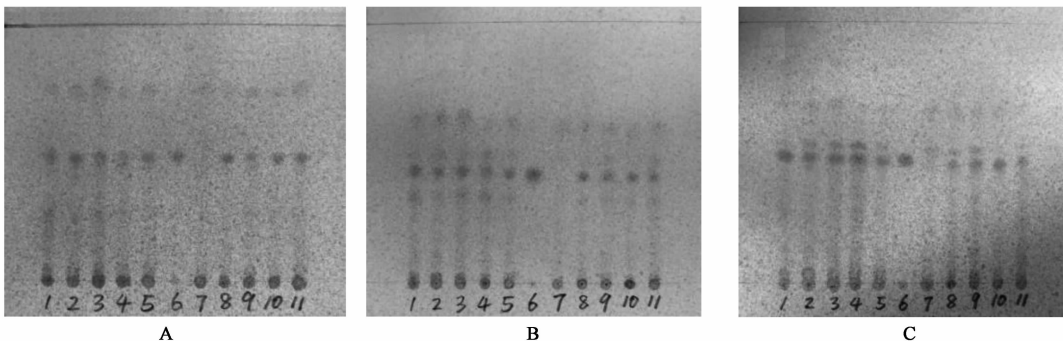
1.1 仪器 1260 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),Allch 3300 型 ELSD 检测器(美国奥泰科技公司),AB 135-S 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司,上海)。

1.2 试药 薄层色谱硅胶预制板(烟台市化学工

业研究所),乙腈(美国 TEDIA 天地试剂公司)、甲醇(上海凌峰化学试剂有限公司)为色谱纯,其他试剂均为分析纯,娃哈哈纯净水。玉竹药材购自各药店;玉竹对照药材(中国食品药品检定研究院,批号 121467-200702);5,7-dihydroxy-6-methyl-8-methoxy-3-(4'-hydroxybenzyl)-chroman-4-one(简称 POF 2),(25 S/R)-spirost-5-ene-3 β -ol 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside(简称 POD 1)对照品(均为实验室自制,经 HPLC 测定,面积归一化法计算纯度 >98%)

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别 玉竹药材 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重,粉碎,过 60 目筛,取 1.0 g 粉末,加入三氯甲烷-甲醇(6:4)混合溶剂 20 mL,静置 1 h 后超声 30 min。离心取上清液,点板。展开系统:①石油醚-三氯甲烷-甲醇-甲酸(1:9:0.65:0.05);②三氯甲烷-丙酮-甲酸(7:1.1:0.05);③环己烷-乙酸乙酯-正丁醇-甲酸(5:2:0.3:0.03)。用 1% 铁氰化钾溶液和 1% 三氯化铁乙醇溶液 1:1 混合后作显色剂显色。结果 3 种展开剂在相应位置,均有 POF2 斑点,可知安徽产玉竹为伪品。见图 1。



A. 展开系统①;B. 展开系统②;C. 展开系统③;1. 重庆;2. 河北;3. 河南;4. 湖北;5. 对照药材;
6. 对照品(POF 2);7. 安徽;8. 湖南 I;9. 湖南 II;10. 江苏;11. 辽宁

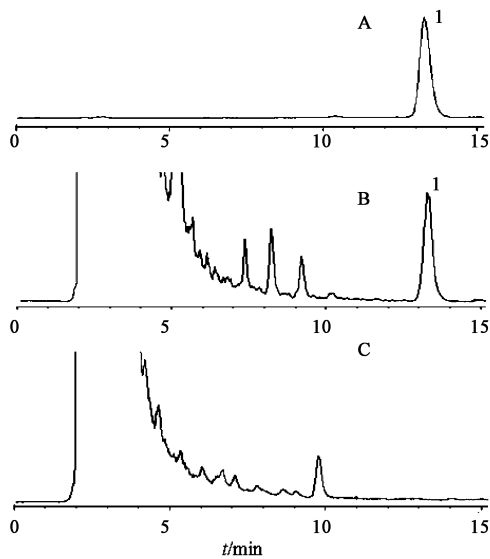
图 1 不同展开系统下玉竹样品 TLC

2.2 皂苷类成分含量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-甲醇-水(48:5:47),流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,进样量 10 μL ;

ELSD 参数:雾化气 N₂,气体流速 1.6 L \cdot min⁻¹,漂移管温度 42.6 $^{\circ}\text{C}$,Gain 值 4。见图 2。

2.2.2 供试品溶液 玉竹根茎 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重,粉碎,过 60 目筛,取粉末约 3.0 g,精密称定,加无水



A. 对照品; B. 供试品; C. 伪品; 1. POD I

图2 玉竹 HPLC

乙醇 30 mL, 称定质量, 置水浴中 85 °C 回流 2 h, 放冷, 再称定质量, 用无水乙醇补足损失的质量, 摇匀, 静置, 取上清液 10 mL, 减压浓缩至干, 甲醇溶解定容至 2 mL, 摇匀, 即得。

2.2.3 对照品储备液 精密称取 POD I 对照品 10.29 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取对照品储备液 0.1, 0.8, 1.0, 1.4, 1.6, 1.8 mL, 置 2 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 与对照品储备液一起, 作为线性考察系列溶液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 按 2.2.1 色谱条件进样, 测定峰面积。以对照品进样量 (mg) 的对数值 (X) 为横坐标, 以峰面积积分值的对数值 (Y) 为纵坐标, 得回归方程 $Y = 1.4309X + 8.9795 (r = 0.9997)$ 。表明 POD I 在 0.5145 ~ 9.2610 μg 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取上述稀释后的对照品溶液 (0.26 g·L⁻¹), 按上述色谱条件连续进样 6 次, 第 2 天和第 3 天分别各进样 1 次, 测定峰面积。分别计算日内精密度和日间精密度。结果日内精密度 RSD 0.15%, 日间精密度 RSD 0.03%。

2.2.6 稳定性试验 取同一批样品, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件分别在 0, 4, 8, 16, 24, 32 h 进样, 测定峰面积, 计算。结果 RSD 2.55%。表明样品在 32 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品 (湖北) 6 份, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别按上述色谱

条件进样, 测定峰面积, 计算含量。结果 RSD 0.94%, 表明样品重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取同一批已知含量样品 (湖北) 6 份, 每份约 3 g, 精密称定, 分别精密加入对照品 POD I 溶液 (0.52 g·L⁻¹) 4.62 mL, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 色谱条件进样, 计算加样回收率。结果见表 1。

表1 玉竹中 POD I 加样回收率

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	3.030	2.391	4.848	102.30	103.09	1.52
2	3.010	2.375	4.855	103.22		
3	3.000	2.367	4.887	104.87		
4	3.080	2.430	4.951	104.94		
5	3.050	2.407	4.862	102.19		
6	3.040	2.399	4.826	101.03		

注: 加入量均为 2.4024 mg。

2.2.9 检测限和定量限 精密吸取对照品溶液适量, 加甲醇逐步稀释至所测得 S/N = 3 和 S/N = 10, 结果检测限为 0.2 μg, 定量限为 0.5 μg。

2.2.10 样品含量测定 取各地药材样品共 8 批, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按色谱条件进样, 记录色谱图, 计算样品中 POD I 含量见表 2。

表2 玉竹样品中 POD I (n=2) %

No.	产地	POD I 质量分数 %
1	重庆	0.0702
2	河北	0.0136
3	河南	0.0675
4	湖北	0.0789
5	湖南 1	0.0579
6	湖南 2	0.1095
7	江苏	0.0389
8	辽宁	0.0646

3 讨论

3.1 对照品的选择 皂苷为玉竹中主要药效成分之一, 皂苷 POD I 在不同玉竹中含量有较大差异, 且含量相对较高^[7], 有一定的专属性, 故选为对照品。

3.2 ELSD 参数的选择 雾化气流速和飘移管温度通过 ELSD 3300 Control 优化, 确定最优参数为 1.6 L·min⁻¹, 42.6 °C。通过试验比较了 Gain = 1, 4, 8 时对皂苷 POD I 响应的影响, 结果表明 Gain 4 有适宜的响应值, 且 S/N 较低, 因此确定 Gain 为 4。

3.3 流动相的优化 分别考察了甲醇-水、乙腈-水及乙腈-甲醇-水等流动相系统, 通过比较色谱图的分离情况, 结果表明乙腈-甲醇-水系统分离效果最好。然后对流动相比例进行筛选, 结果表明乙腈-甲

壁虎药材蛋白质提取工艺优化

包华音*

(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的:优化建立壁虎药材蛋白质的提取工艺。方法:通过比较超声和回流两种提取方式对壁虎药材蛋白质提取率的影响,筛选适合的提取方式。分别对 pH、料液比、提取温度、提取时间 4 种影响因素进行单因素考察,并采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以蛋白提取率为指标,优选建立壁虎药材蛋白质的提取工艺。结果:超声提取的蛋白质含量显著高于回流提取,建立了壁虎药材蛋白质的最佳提取工艺:pH 12,料液比 1:20,提取温度 50 ℃,超声提取时间 80 min。结论:该研究建立的蛋白质提取工艺稳定、合理、可行,为壁虎药材的质量评价和生物活性物质的进一步研究提供了实验依据。

[关键词] 壁虎;蛋白质;提取工艺;单因素考察;正交试验

[中图分类号] R284.1;R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0077-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170077

Optimization of Protein Extraction Technology of Gekko Swinhoanis

BAO Hua-yin*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** The purpose of this study was to optimize the extraction technology of protein in Gekko Swinhoanis. **Method:** The proper extraction method was selected by comparing the effect of ultrasonic and

[收稿日期] 20131204(010)

[基金项目] 《山东省中药材标准》2012 版标准研究;山东省高等学校青年骨干教师国内访问学者项目(鲁教人函(2012)9 号);山东中医药大学青年骨干培养计划项目(ZYDXY1340)

[通讯作者] *包华音,博士,讲师,从事中药质量控制与资源研究,Tel:13064057985,E-mail:baohuayin@163.com

醇-水(48:5:47)时效果最好。

3.4 提取条件优化

3.4.1 溶剂优化 分别考察了 100% 甲醇、100% 乙醇、90% 甲醇和 90% 乙醇对样品的提取效率,结果表明 100% 乙醇提取效率最高。

3.4.2 溶剂倍量优化 分别考察了 10,15,20 倍量溶剂对提取效率的影响,结果表明无差异,因此确定用最少量,即 10 倍量。

3.4.3 提取时间优化 分别考察提取时间为 1,2,3 h 对提取效率的影响,结果表明,提取时间为 2 h 与 3 h 无明显差异,而提取时间为 1 h 的提取效率较低,考虑节省时间的因素,确定提取时间为 2 h。

[参考文献]

[1] 汪发缙,唐进,陈心启,等. 中国植物志. 第 15 卷

[M]. 北京:科学出版社,1978:61.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:78.

[3] 林琳,林寿全. 黄精与玉竹的生药性状及组织特征比较[J]. 中草药,1994,25(5):261.

[4] 杨慧洁,杨世海,张海弢,等. 玉竹化学成分、药理作用研究进展及开发利用现状[J]. 人参研究,2012(3):40.

[5] 吕晓茜,包京珊,张蕾,等. 玉竹总皂苷超声波提取工艺研究[J]. 中国现代中药,2012,14(5):45.

[6] 郭焕杰,赵焕新,白虹. 玉竹中甾体皂苷及高异黄酮类化合物的波谱学特征[J]. 中医药学报,2012,40(5):41.

[7] 张洪. 玉竹的化学成分及质量控制研究[D]. 南京:中国药科大学,2011:181.

[责任编辑 顾雪竹]