

道地产区不同品种怀地黄中梓醇及毛蕊花糖苷的含量比较

杨云*, 张华锋, 刘炯, 张杰, 刘富岗, 卫冰
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:考察道地产区不同品种怀地黄中梓醇及毛蕊花糖苷的含量。方法:采用高效液相色谱法,甲醇回流提取梓醇及毛蕊花糖苷, Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 梓醇流动相为乙腈-0.1% 磷酸(1:99), 检测波长 210 nm, 毛蕊花糖苷流动相为乙腈-0.1% 醋酸(16:84), 检测波长 334 nm。结果:道地产区不同品种怀地黄中梓醇及毛蕊花糖苷含量不同, 鲜地黄与生地黄中梓醇及毛蕊花糖苷的含量也不相同。结论:怀地黄品种品质不一, 有必要进行种质资源优选。

[关键词] 道地产区; 品种; 梓醇; 毛蕊花糖苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0097-05

[doi] 10.11653/syfyj2013160097

Content Comparison of Catalpol and Acteoside in *Rehmannia glutinosa* with Different Varieties from Genuine Producing Area

YANG Yun*, ZHANG Hua-feng, LIU Jiong, ZHANG Jie, LIU Fu-gang, WEI Bing
(College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the content of catalpol and acteoside in *Rehmannia glutinosa* with different varieties from genuine producing area. **Method:** Catalpol and acteoside were reflux extraction with methanol and determined by HPLC. The chromatographic column was Dikma Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; the column temperature was kept at 30 ℃; the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (1:99) and the detection wavelength was set at 210 nm for catalpol; the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% acetic acid solution (16:84) and the detection wavelength was set at 334 nm for acteoside. **Result:** The content of catalpol and acteoside was different in different varieties from genuine producing area and the differences also exist in the fresh and dried *R. glutinosa*. **Conclusion:** The quality of varieties of *R. glutinosa* was different and it was necessary to screen the optimal variety.

[Key words] genuine producing area; varieties; catalpol; acteoside; HPLC

地黄为玄参科植物地黄的新鲜或干燥块根,具有清热解毒、养阴生津、凉血、止血等功效^[1],为临

床常用中药。怀地黄作为道地药材,具有极大的市场需求量,而目前怀地黄品种较多,种植区域较广,对于这些品种进行有效地评价和筛选将有助于提升怀地黄的疗效、品质及市场地位。2010年版《中国药典》新增毛蕊花糖苷和梓醇一起共同作为地黄质量控制的指标性成分,已有的研究表明二者皆具有良好的生物活性,如神经保护^[2-3]、降血糖^[4]、抗衰老^[5]、免疫调节^[6]等作用,因此本文采用 HPLC^[7-8]对以上两种成分在所采集样本中的含量进行分析测定,以期地为地黄品种的优选及进一步的研究提供参考。

[收稿日期] 20120605(004)

[基金项目] 地黄规范化种植基地优化升级及系列产品综合开发研究(2011BAI006B02)

[第一作者] 卫冰,硕士研究生,从事中药及制剂中活性成分研究及新药开发, Tel: 0371-65680605, E-mail: weibing3381@126.com

[通讯作者] *杨云,硕士生导师,教授,从事中药及制剂中活性成分研究及新药开发, Tel: 0371-65680605, E-mail: Yyun@china.com.cn

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪 (SPD-20A 紫外检测器,日本岛津),SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂),SaturisBS210S 型电子天平(塞多利斯公司),METTLER AE240 型电子分析天平(瑞士),DHG-9146A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),恒奥 HS6150D 型超声清洗器,SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),ZK-82A 型真空干燥箱(上海市仪器总厂),XJA-100A 型微型高速粉碎机(姜堰市银河仪器厂)等。

1.2 试药 梓醇对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110808-200508),毛蕊花糖苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111530-201007),乙腈为色谱纯(美国 TIDEA 公司),水为双蒸水,其余所用试剂均为分析纯。

怀地黄样品共 13 批,其中温县地黄规范化种植基地 6 批,所有样品经由本院生药教研室董诚明教授鉴定,为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的块根。样品信息见表 1。鲜地黄样品处理如下:将鲜地黄洗净去除泥沙,切成约 2~4 mm 的薄片,80℃减压干燥 24 h 后,粉碎,过 80 目筛,干燥器内室温保存,备用。生地黄(取鲜地黄适量,60℃^[9] 常温缓缓烘焙至约 8 成干)按 2010 年版《中国药典》地黄项下规定操作:切成约 5 mm 的小块,经 80℃减压干燥 24 h 后,粉碎,过 80 目筛,干燥器内室温保存,备用。

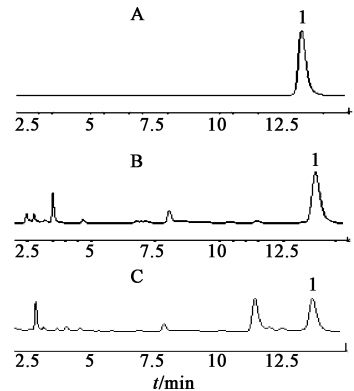
表 1 怀地黄样品信息

No.	品种	产地
S1	85-5	温县宛西制药怀药生产基地
S2	生津一号	温县宛西制药怀药生产基地
S3	山西种	温县宛西制药怀药生产基地
S4	沁怀一号	温县宛西制药怀药生产基地
S5	红薯王	温县宛西制药怀药生产基地
S6	北京 3 号	温县宛西制药怀药生产基地
S7	北京 3 号	孟州市化工镇刘庄村
S8	北京 3 号	孟州市化工镇许庄村
S9	北京 3 号	孟州市化工镇高庄村
S10	北京 3 号	温县南张羌镇朱家庄
S11	北京 3 号	武陟县大封镇东岩村
S12	沁怀 1 号	武陟县大封镇大司马村
S13	怀丰号	武陟县大封镇大司马村

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 梓醇色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,0.5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸(1:99),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 334 nm,柱温 30℃。理论板数按梓醇峰计不低于 5 000,色谱图见图 1。



A. 对照品溶液;B. 鲜地黄供试品溶液;
C. 生地黄供试品溶液;1. 梓醇

图 1 梓醇高效液相色谱

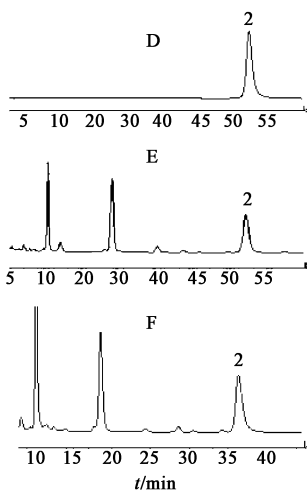
2.1.2 毛蕊花糖苷色谱条件 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm,0.5 μm),流动相乙腈-0.1% 醋酸(16:84),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 334 nm,柱温 30℃。理论板数按毛蕊花糖苷峰计不低于 5 000,色谱图见图 2。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取梓醇和毛蕊花糖苷对照品适量,分别置于 5 mL 和 10 mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 1.002 g·L⁻¹梓醇对照品溶液和 0.126 g·L⁻¹的毛蕊花糖苷对照品溶液,临用前过 0.22 μm 微孔滤膜。

2.3 供试品溶液的制备 取怀地黄粉末约 1.0 g,精密称定,置 100 mL 烧瓶中,精密量取并加入 50 mL 甲醇,称定质量,水浴回流提取 1.5 h,冷却至室温,称定质量,溶剂补足失重,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液适量(梓醇 5 mL,毛蕊花糖苷 20 mL),置蒸发皿中,50℃水浴浓缩至近干,残渣分别以流动相溶解并定容至 10 mL 量瓶(梓醇)和 5 mL 量瓶(毛蕊花糖苷),过 0.22 μm 滤膜即得供试品溶液,进样量分别为 10,20 μL,色谱图分别见图 1,2。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别精密吸取梓醇对照品溶液 0.5,1,2,4,6,8 μL,毛蕊花糖苷对照品溶液 1,



D. 对照品溶液;E. 鲜地黄供试品溶液;
F. 生地黄供试品溶液;2. 毛蕊花糖苷

图2 毛蕊花糖苷高效液相色谱

2,4,6,8,10 μL,注入液相色谱仪,分别按2.1项下对应色谱条件测定,以峰面积为纵坐标(Y),进样量(μg)为横坐标(X),绘制标准曲线,得梓醇回归方程为 $Y = 384\ 269X + 12\ 265 (r = 0.999\ 9)$,表明梓醇在0.501~8.016 μg间线性关系良好;毛蕊花糖苷回归方程为 $Y = 1\ 201\ 776.4X - 64\ 360.7 (r = 0.999\ 9)$,表明毛蕊花糖苷在0.126~1.26 μg线性关系良好。

2.4.2 精密度试验 分别精密吸取梓醇对照品溶液4 μL,毛蕊花糖苷对照品溶液6 μL,重复进样6次,分别测定记录梓醇和毛蕊花糖苷的峰面积,计算结果显示梓醇峰面积的RSD 1.28%,毛蕊花糖苷的峰面积的RSD 0.55%,表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 分别取同一梓醇和毛蕊花糖苷供试品溶液(S4),分别在2,4,6,8,10,12 h进样,记录梓醇和毛蕊花糖苷的峰面积,结果鲜地黄梓醇RSD 1.27%,毛蕊花糖苷RSD 1.17%;生地黄梓醇RSD 1.59%,毛蕊花糖苷RSD 1.56%;表明供试品溶液在室温条件下放置12 h稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 取鲜地黄及生地黄粉末(S4),按2.3项下供试品溶液的制备方法分别制备梓醇和毛蕊花糖苷供试液,平行6份,分别记录色谱图,结果鲜地黄梓醇RSD 0.78%,毛蕊花糖苷RSD 1.43%;生地黄梓醇RSD 1.32%,毛蕊花糖苷RSD 1.42%,表明本方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 称取已知梓醇和毛蕊花糖苷含量的鲜地黄及生地黄粉末(S5)各6份,每份0.5 g,精密称定,分别精密加入梓醇和毛蕊花糖苷对照品适量,其余按供试品溶液的制备方法制备供

试液,分别精密吸取10 μL进样,记录色谱图,计算鲜地黄梓醇平均回收率为100.76%,RSD 2.03%(n=6),毛蕊花糖苷回收率为98.61%,RSD 2.15%(n=6);生地黄梓醇平均回收率为99.75%,RSD 2.33%(n=6),毛蕊花糖苷平均回收率为98.93%,RSD为2.54%(n=6),表明本方法具有较好的回收率,结果见表2,3。

表2 鲜地黄中梓醇和毛蕊花糖苷加样回收率试验

	称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
梓醇	0.500 7	10.51	10.52	21.17	101.26	100.76	2.03
	0.502 6	10.55	10.53	21.07	99.86		
	0.503 2	10.57	10.51	21.41	103.15		
	0.501 8	10.54	10.52	21.13	100.71		
	0.501 9	10.54	10.50	21.28	102.28		
	0.501 1	10.52	10.51	20.75	97.31		
毛蕊花糖苷	0.500 7	0.322 0	0.315 0	0.636 1	99.72	98.61	2.15
	0.502 6	0.323 2	0.315 0	0.626 7	96.35		
	0.503 2	0.323 6	0.315 0	0.640 0	100.46		
	0.501 8	0.322 7	0.315 0	0.626 1	96.32		
	0.501 9	0.322 7	0.315 0	0.641 4	101.18		
	0.501 1	0.322 2	0.315 0	0.629 8	97.64		

表3 生地黄中梓醇和毛蕊花糖苷加样回收率实验

	称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
梓醇	0.504 0	8.719	8.72	17.48	100.43		
	0.504 8	8.733	8.74	17.20	96.83		
	0.503 4	8.709	8.71	17.38	99.56	99.75	2.33
	0.502 2	8.688	8.71	17.72	103.71		
	0.502 6	8.695	8.72	17.26	98.25		
	0.502 7	8.697	8.73	17.40	99.73		
毛蕊花糖苷	0.504 0	0.222 3	0.226 8	0.454 5	102.39	98.93	2.54
	0.504 8	0.222 6	0.226 8	0.445 9	98.44		
	0.503 4	0.222 0	0.226 8	0.440 5	96.32		
	0.502 2	0.221 5	0.226 8	0.449 7	100.65		
	0.502 6	0.221 6	0.226 8	0.448 0	99.82		
	0.502 7	0.221 7	0.226 8	0.439 3	95.96		

2.5 样品测定 取所有鲜地黄及生地黄样品粉末,按供试品溶液的制备方法制备梓醇及毛蕊花糖苷供试品溶液,平行3份。结果见表4(以干燥品计)。

表 4 鲜地黄及生地黄中梓醇、毛蕊花糖苷含量测定 %

No.	鲜地黄		生地黄	
	梓醇	毛蕊花糖苷	梓醇	毛蕊花糖苷
S1	3.28	0.044 4	2.76	0.031 7
S2	3.43	0.039 5	2.45	0.022 9
S3	2.87	0.017 4	2.29	0.011 9
S4	4.93	0.058 6	3.71	0.040 0
S5	2.14	0.067 8	1.76	0.046 7
S6	4.05	0.024 4	2.42	0.015 6
S7	3.74	0.033 9	3.00	0.013 5
S8	3.72	0.025 9	2.84	0.014 1
S9	3.24	0.030 6	2.64	0.017 3
S10	3.42	0.019 4	2.64	0.017 0
S11	4.85	0.028 3	2.76	0.022 8
S12	3.16	0.027 2	2.25	0.015 1
S13	2.86	0.035 3	2.37	0.021 3

3 讨论

曾尝试采用梯度洗脱,在同一色谱条件下同时测定梓醇和毛蕊花糖苷,但由于二者最佳检测波长和含量均相差太多,因此无法满足药典关于含量测定的要求,最终按照药典所述色谱方法进行含量测定,以确保含量测定的准确性。

有关鲜地黄中指标性成分的含量测定,有研究^[10-11]直接以鲜地黄原药材作为提取原料,用以确保含量测定不受加工炮制的影响,但本实验前期考察结果表明采用此法处理样品时重复性较差,李先恩等^[12]通过对地黄不同品种及不同块根中梓醇含量的分析研究认为同一品种的不同单株中梓醇含量有所不同,鲜地黄和生地黄的不同部位梓醇含量和可溶性糖的含量也不相同,据此我们可以推断地黄中所含化学成分在不同部位的富集程度是不相同的,因此不宜采用鲜地黄直接作为提取原料,而需要对其进行必要的处理,否则所测含量就不具有代表性。本实验对所采集地黄样本进行随机均匀取样并采用减压干燥法处理,有效地解决了上述问题。

减压干燥是在密闭容器中抽真空后进行干燥的方法,具有温度低、产品易粉碎的优点,此外还减少了空气对产品的不良影响,对于保证产品质量具有重要意义,尤其适用于含有热敏性成分的样品。张春丽等^[13]对地黄与玄参中环烯醚萜苷类成分的研究结果表明 105 ℃减压干燥条件下,9 h 内梓醇和哈巴俄苷的含量均没有明显的变化,因此提示应隔绝氧气的影响。基于此本实验采用 80 ℃减压干燥 24

h 处理鲜地黄及生地黄样品,所得鲜地黄粉末呈现淡黄色、生地黄粉末为暗灰色,保持了样本原有的面貌,提示减压干燥过程中并未对化学成分的结构造成大的影响。

由表 4 的含量测定结果可知道产区不同品种、不同种植区域所得地黄样本中梓醇及毛蕊花糖苷的含量存在明显差异,鲜地黄样本中梓醇含量最高为基地沁怀一号(4.93%),最低为基地红薯王(2.14%),毛蕊花糖苷含量最高为基地红薯王(0.067 8%),最低为基地山西种(0.017 4%);与之对应的生地黄样本中梓醇含量最高为基地沁怀一号(3.71%),最低为基地红薯王(1.76%),毛蕊花糖苷含量最高为基地红薯王(0.046 7%),最低为基地山西种(0.011 9%),可以看出品种因素是影响两种指标性成分含量的重要因素。就同一品种北京 3 号(S6~S11)而言,因种植区域的不同,两种指标性成分的含量也不尽相同,但差异要远小于种间差异,提示培育地黄优良品种具有重要意义,同时也要注意地域等其他因素的影响,就本实验而言,综合梓醇和毛蕊花糖苷两项指标,以基地沁怀一号品质最好且规范化种植有利于提升地黄品质。

梓醇和毛蕊花糖苷在由鲜地黄加工成生地黄的过程中都出现了不同程度的损失,这可能与温度和酶^[9,14]的影响有关。

[参考文献]

[1] 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, 2010:115.

[2] 万东. 梓醇促神经修复作用及其脑可塑性机制研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2007:32.

[3] 张秀丽. 梓醇对 D-半乳糖衰老小鼠的神经保护作用研究[D]. 大连:大连理工大学, 2008:85.

[4] 赵素容, 卢宏伟, 陈金龙, 等. 地黄梓醇降糖作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1):171.

[5] 刘庆丰, 夏宗勤, 孙启祥, 等. 梓醇对 β 肾上腺素受体及 M 胆碱受体失平衡的双向调节作用[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2007, 27(12):1432.

[6] Zhang H Q, Lai Y L. Acteoside inhibits apoptosis in a D-galactosamine and lipopolysaccharide induced liver injury[J]. Life Sci, 1999, 65(4):421.

[7] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. HPLC 法测定地黄、不同提取物及熟地黄中的梓醇[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1):23.

[8] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. 地黄中寡糖含量的 HPLC 法测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):8.

平胃舒胶囊质量标准制定

徐乃玉¹, 张诗超¹, 田甜¹, 杨淑敏¹, 刘江云¹, 郝丽莉^{1*}, 方正²

(1. 苏州大学医学部药学院, 江苏 苏州 215123; 2. 贵州汇恒投资有限公司, 贵阳 550008)

[摘要] 目的: 建立平胃舒胶囊的质量控制标准。方法: 采用薄层色谱法对制剂中黄连和延胡索进行鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中盐酸小檗碱含量。结果: 薄层色谱斑点清晰, 分离度较好, 专属性强。高效液相色谱法测定结果, 盐酸小檗碱在 0.368 ~ 3.680 μg 线性关系良好 ($r = 0.9998$), 平均加样回收率 99.86%, RSD 1.46%。结论: 该方法快速、灵敏、准确, 可有效控制平胃舒胶囊的质量。

[关键词] 平胃舒胶囊; 盐酸小檗碱; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0101-03

[doi] 10.11653/syjf2013160101

Establishment of Quality Standard of Pingweishu Capsules

XU Nai-yu¹, ZHANG Shi-chao¹, TIAN Tian¹, YANG Shu-min¹, LIU Jiang-yun¹, HAO Li-li^{1*}, FANG Zheng²

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmaceutical Science, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2. Guizhou Huiheng Investment Company Limited, Guiyang 550008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standards of Pingweishu capsules. **Method:** *Coptis chinensis* and *Corydalis Rhizoma* were identified by TLC. The content of berberine hydrochloride was determined by RP-HPLC. **Result:** The spots in the TLC were fairly clear, and no interference was shown in the blank samples. Berberine hydrochloride showed a good linear relationship within a range of 0.368-3.68 μg ($r = 0.9998$). The average rate of recovery was 99.86% (RSD 1.46%). **Conclusion:** The method is a simple, rapid and accurate analysis assay, which could be used for quality control of Pingweishu capsules.

[Key words] Pingweishu capsules; berberine hydrochloride; TLC; HPLC

平胃舒基本组方为经典名方香连平胃散、黄芪建中汤、异功散、戊己丸、白术芍药散等加减化裁组合而

[收稿日期] 20120807(005)

[基金项目] 贵州省中药现代化计划重点项目(20095002); 江苏省“大学生实践创新训练计划”项目(2012zd017)

[第一作者] 徐乃玉, 博士, 讲师, 从事药物分析研究, Tel:0512-65882090, E-mail: sxny@163.com

[通讯作者] * 郝丽莉, 硕士, 教授, 从事临床中药学研究, Tel:0512-65884277, E-mail: haolili36@163.com

[9] 刘彦飞. 地黄产后加工过程中梓醇的变化规律[D].

济南: 山东大学, 2008; 27.

[10] 李计萍, 马华, 王跃生, 等. 鲜地黄与干地黄中梓醇、糖类成分含量的比较[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(5): 300.

[11] 马运明, 郭建华, 田成旺, 等. HPLC法测定鲜地黄中梓醇和桃叶珊瑚苷[J]. 中草药, 2011, 42(7): 1348.

[12] 李先恩, 杨世林, 杨峻山. 地黄不同品种及不同块根部位中梓醇含量分析[J]. 中国药学杂志, 2002, 37

(11): 820.

[13] 张春丽, 徐江, 李纲, 等. 不同干燥方法对地黄与玄参中环烯醚萜苷类成分含量的影响[J]. 解放军药理学报, 2010, 26(5): 424.

[14] 赵宇, 温学森, 崔晶, 等. 鲜地黄中 α -半乳糖苷酶和 β -葡萄糖苷酶的提取与初步纯化[J]. 中药材, 2006, 29(2): 137.

[责任编辑 顾雪竹]