

黄芩花质量标准

刘林凤¹, 刘来正¹, 郝晶晶¹, 李宝霞¹, 李慧博¹, 徐丽霞¹, 梁延寿^{1*}, 卫罡², 侯宵²
(1. 山西药科职业学院, 太原 030031; 2. 山西省医药与生命科学研究院, 太原 030006)

[摘要] 目的: 修订和提高黄芩花药材的质量标准。方法: 依据《中国药典》2010 年版附录药品标准研究方法对黄芩花药材的显微、薄层进行鉴别, 对 10 批黄芩花药材的杂质、水分、灰分、酸不溶性灰分进行检查, 并测定其有效成分含量。结果: 确定了黄芩花的显微特征, 建立了其 TLC 鉴别; 黄芩花的水分限度 $\leq 11.0\%$, 杂质限度 $\leq 11.0\%$, 黄芩花酸不溶性灰分限度 $\leq 1.0\%$, 黄芩花总灰分限度 $\leq 9.0\%$, 10 批黄芩花中木犀草素质量分数 $0.10 \sim 1.40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论: 完善了黄芩花药材的质量标准, 可作为修订内容。

[关键词] 黄芩花; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 木犀草素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0119-03

[doi] 10.11653/syjf2013130119

Quality Standard of *Wikstroemia chamaedaphne*

LIU Lin-feng¹, LIU Lai-zheng¹, HAO Jing-jing¹, LI Bao-xia¹, LI Hui-bo¹, XU Li-xiang¹,
LIANG Yan-shou^{1*}, WEI Gang², HOU Xiao²

(1. Shanxi Pharmaceutical Occupational College, Taiyuan 030031, China;
2. Shanxi Institute of Medicine and Life Science, Taiyuan 030006, China)

[Abstract] **Objective:** To revise and improve quality standards of *Wikstroemia chamaedaphne*. **Method:** According to research methods of 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia* appendix, microscopic and TLC of *W. chamaedaphne* was identified, impurities, moisture, ash, acid insoluble ash and the content of active ingredients in 10 batches of *W. chamaedaphne* were determined. **Result:** Microscopic characteristics and TLC identification of *W. chamaedaphne* was determined and established; Moisture limit and impurities limit of *W. chamaedaphne* were $\leq 11.0\%$, acid insoluble ash limit $\leq 1.0\%$, ash limit $\leq 9.0\%$, the mass fraction of luteolin in 10 batches of *W. chamaedaphne* was $0.10\text{-}1.40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. **Conclusion:** This study improved quality standard of *W. chamaedaphne*, it could be as amendments.

[Key words] *Wikstroemia chamaedaphne*; quality standard; TLC; HPLC; luteolin

黄芩花为瑞香科植物河朔堯花 *Wikstroemia chamaedaphne* Meissn. 的干燥花蕾, 始载于《神农本草经》^[1], 《图经本草》、《本草纲目》^[2] 等著作中亦有记载和论述, 收载于《中国药典》1977 年版一部^[3]

和《山西省中药材标准》1987 年版^[4]。黄芩花含有较多黄酮类化合物, 已分离检出芫花酯甲^[5]和木犀草素^[6]。木犀草素具有利尿、利胆、抗炎等活性^[7], 是黄芩花治疗水肿胀满、痰饮胀满和急、慢性肝炎等的有效成分。为提高和修订地方标准, 本实验对 10 批黄芩花药材进行显微、薄层鉴别, 检测其杂质、水分、灰分及有效成分含量, 为黄芩花药材质量控制提供依据。

1 材料

ODS-AP 型色谱柱 (4.6 mm \times 200 mm, 5 μm , 大连依利特公司), LC-2010 型液相色谱仪 (日本岛津公司), SX-4-10 型马弗炉 (北京中兴伟业仪器有限公司)

[收稿日期] 20130419(012)

[基金项目] 山西省中药材地方标准研究编制专项 (2011020A)

[第一作者] 刘林凤, 学士, 副教授, 从事中药学研究, Tel: 0351-7820585, E-mail: sxswllf@163.com

[通讯作者] * 梁延寿, 本科, 教授, 从事中药学研究, Tel: 0351-7820331, E-mail: Liangys02@yahoo.com.cn

公司), FA2014 型 1/万电子天平(上海精科), Motic 教师 300 万像素 DMBA300-C 型数码一体化显微镜系统(Motic Digital Class 2.0 控制软件, 麦克奥迪公司), DHG-9075A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司), QE-100 型二两装高速中药粉碎机(武汉市屹立工具有限公司), 硅胶 G 薄层板(100 mm × 200 mm, 青岛海洋化工厂, 青岛基亿达公司)。

木犀草素对照品(纯度 ≥ 98%, 批号 MUST-11051001, 北京世纪奥科生物技术有限公司), 对照药材为采集的黄芩花样品(H-TY-W-12), 甲醇、乙醇、磷酸为优级纯, 其他试剂均为分析纯。

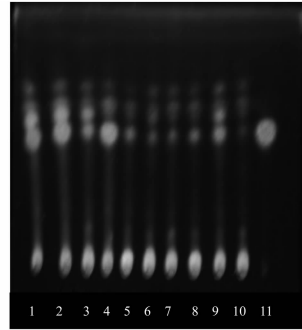
10 批黄芩花样品的编号和来源分别为 H-TY-W-07(2007 年采自太原五龙沟), H-TY-W-12(2012 年采自太原五龙沟), H-HZ-H(采自霍州霍山), H-TY-Q(采自清徐碾底), H-YC-Y(采自运城盐池), H-HZ-T(采自霍州陶唐峪), H-BZ-07(2007 年购自安徽亳州药材市场), H-BZ-H(购自安徽亳州药材市场, 产地湖北), H-TY-T-12(2012 年购自天龙山), H-JX(购自绛县), 各批样品经山西药科职业学院副教授刘来正鉴定, 均符合 1987 年版《山西省中药材标准》黄芩花品种性状鉴别项下规定。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别 取黄芩花药材粉末, 水装片观察淀粉粒; 取黄芩花药材粉末, 水合氯醛加热透化, 稀甘油装片观察其他组织细胞。结果显示本品粉末棕色或棕绿色。非腺毛甚多, 单细胞, 多碎断; 完整者长度 25 ~ 490 μm, 直径 11 ~ 19 μm, 壁厚 2 ~ 5 μm; 体部平直或 S 形弯曲, 先端渐尖、钝圆或偶有分叉; 足部多收缩弯窄并做直角拐曲^[8]。花粉粒类球形, 直径 16 ~ 27 μm, 外壁约 3 μm, 表面有细网状纹理, 萌发孔多数, 散在, 不显著。花被碎片和花粉囊碎片易见。导管和管胞呈分支状存在于各种碎片中, 直径 6 ~ 18 μm^[9]。

2.2 TLC 鉴别 取本品粉末 1 g, 加石油醚(60 ~ 90 °C) 20 mL 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 弃去石油醚液, 药渣挥干溶剂, 加 70% 乙醇 20 mL 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 10 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄芩花对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。取木犀草素对照品, 经重结晶进一步纯化后, 加甲醇制成 1 g · L⁻¹ 的对照品溶液。照 TLC(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液和对照药材溶液各 5 ~ 10 μL, 对照品

溶液 2 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(8:4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 4% 三氯化铝甲醇溶液, 于 105 °C 加热数分钟, 置紫外光灯(365 nm) 下检视, 结果见图 1, 发现供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点^[10]。



1. H-BZ-07; 2. H-BZ-HB; 3. H-JX; 4. H-TY-T; 5. H-YC-Y;
6. H-TY-Q; 7. H-HZ-H; 8. H-TY-W-07; 9. H-TY-W-12;
10. H-HZ-T; 11. 对照品

图 1 黄芩花 TLC

2.3 杂质 照杂质检查法(《中国药典》2010 年版一部附录 IX A) 试验, 结果 10 批黄芩花样品杂质质量分数 7.6% ~ 30.5%, 剔除异常值(30.5%, 28.0%, 22.3%, 15.9%, 10.9%) 后, 以最大值(9.9%) 上浮 10% 设为杂质测定上限, 即黄芩花中杂质限度 ≤ 11.0%。

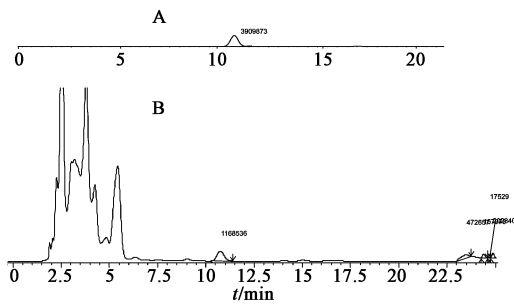
2.4 水分 照水分检查法(《中国药典》2010 年版一部附录 IX H 第一法) 试验, 结果 10 批黄芩花样品水分质量分数 8.38% ~ 10.64%, 剔除异常值(10.64%) 后, 以最大值(9.72%) 上浮 10% 设为水分测定上限(10.692%), 即黄芩花水分限度 ≤ 11.0%。

2.5 灰分 照总灰分测定法和酸不溶性灰分测定法(《中国药典》2010 年版一部附录 IX K) 试验, 结果 10 批黄芩花样品总灰分质量分数 5.58% ~ 8.36%, 以最大值(8.36%) 上浮 10% 设为总灰分测定上限(9.196%), 即黄芩花总灰分限度 ≤ 9.0%。酸不溶性灰分质量分数 0.13% ~ 0.94%, 剔除异常值(0.46%) 后, 以最大值(0.94%) 上浮 10% 设为杂质测定上限(1.034%), 即黄芩花酸不溶性灰分限度 ≤ 1.0%^[11]。

2.6 含量测定 照 HPLC(《中国药典》2010 年版一部附录 VI D) 测定。

2.6.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(55:45), 检测波长 350 nm, 进样量 20 μL。理论板数按木犀草素峰

计算应不低于 2 000^[12]。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 木犀草素

图2 黄芩花 HPLC

2.6.2 对照品溶液的制备 精密称取木犀草素对照品适量,加甲醇制成 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.6.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过3号筛)1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇10 mL,称定质量,超声处理(500 W,40 kHz)1 h,放冷,称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.6.4 线性范围考察 取 $50.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 木犀草素对照品溶液,分别进样5,10,15,20,25 μL ,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得线性方程 $Y = 4 \times 10^6 X - 35 194$ ($r = 0.999 9$),表明木犀草素进样量在 $0.255 5 \sim 1.277 5 \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.6.5 精密度试验 取同一对照品溶液,连续进样6次,结果木犀草素峰面积的RSD 0.39%,表明仪器精密度良好。

2.6.6 稳定性考察 取同一供试品溶液,分别于制备后0,2,4,6,8,10 h时测定,结果木犀草素峰面积的RSD 0.32%,表明供试品溶液在10 h内基本稳定。

2.6.7 重复性试验 取 H-JX 样品,按 2.6.3 项下方法制备6份供试品溶液,依法测定,结果木犀草素含量的RSD 1.85%,说明该方法重复性良好。

2.6.8 加样回收率试验 取样品(H-JX)(木犀草素质量分数 $0.293 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)6份,每份0.5 g,加入木犀草素对照品($1.022 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)0.2 mL,按 2.6.3 项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算平均加样回收率 100.92%,RSD 1.49%。

2.6.9 样品测定 分别称取10批黄芩花样品适量,按 2.6.3 项下方法制备供试品溶液,依法测定,结果木犀草素质量分数 $0.10 \sim 1.40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,不同产地样品中木犀草素差异较大。

3 讨论

从药材市场购买到9批样品,经鉴定5批为芩

花,4批为黄芩花。黄芩花是常用药材芩花的主要混淆品,黄芩花为黄色,药材长 $< 1 \text{ cm}$,花被裂片较浅,为全长的 $1/4 \sim 1/6$,而芩花为浅紫色,药材长 $> 1 \text{ cm}$,花被裂片较深,约为全长的 $1/3$ 多^[13]。

在对黄芩花花被、雄蕊、雌蕊和药材粉末进行显微鉴别时,考虑到生产检验的实际情况,编制黄芩花质量标准时,只选择了粉末特征,其他内容则在起草说明中进行表述。水分测定时,样品不宜用高速粉碎机粉碎,以避免药粉过细、水分挥发,致使测量值偏低。

TLC 鉴别表明,黄芩花除含有木犀草素等游离黄酮类成分外,可能还含有较多黄酮苷类成分,其斑点集中在原点附近。因此,探讨并建立分离检识黄酮苷的 TLC 条件和方法,对全面了解黄芩花黄酮类化合物颇有意义。

木犀草素含量测定多采用 HPLC,但提取溶媒、流动相组成各有不同。在文献检索基础上,通过正交试验优选,选择以70%乙醇为提取溶媒,甲醇-0.1%磷酸(55:45)为流动相系统,木犀草素与相邻峰达基线分离,峰型对称,分离度较好。该方法简便、准确、重复性好,可作为黄芩花质量控制的标准之一。

黄芩花有小毒,服后可能会有不同程度的胃灼痛和腹泻。课题组同事在粉碎黄芩花时,有引起鼻腔出血、口腔黏膜肿痛现象;接触黄芩花粉末会引起皮肤红肿;黄芩花乙醇浸出液溅到皮肤上会引起小水泡,引起灼痛、腹泻和皮肤、黏膜刺激的成分尚未见报道。为用药安全,建议加强黄芩花毒理和毒性成分的分离研究。

[参考文献]

- [1] 黄奭辑. 神农本草经[M]. 北京:中国古籍出版社,1987:251.
- [2] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:人民卫生出版社,1977:5.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,1977:514.
- [4] 山西省卫生厅. 山西省中药材标准[S]. 太原:山西省卫生厅出版社,1987:47.
- [5] 康少文,于永芳,魏清波,等. 黄芩花中期引产有效成分的研究[J]. 承德医学院学报,1984,1(1):5.
- [6] 董倩. 芩花及其炮制品的质量评价[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2010.
- [7] 张芳芳,沈汉明,朱心强,等. 木犀草素抗肿瘤作用的研究进展[J]. 浙江大学学报:医学版,2006,35(5):573.

HPLC 测定中风回春胶囊中丹酚酸 B 的含量

李小妹¹, 康志英¹, 梁咏¹, 麻印莲², 于定荣^{2*}

(1. 广州市香雪制药股份有限公司, 广州 510663; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立中风回春胶囊中丹酚酸 B 的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定丹酚酸 B 的含量, 色谱柱为 Phenomenex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-1% 甲酸溶液 (40:60), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 286 nm, 进样量 10 μL, 柱温 30 ℃。结果: 丹酚酸 B 在 7.9 ~ 196.5 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r = 0.9999$), 平均加样回收率为 99.06%, RSD 1.54%。结论: 建立的方法简便、准确、重复性好, 可用于中风回春胶囊的质量控制。

[关键词] 中风回春胶囊; 丹酚酸 B; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0122-03

[doi] 10.11653/syjf2013130122

Determination of Salvianolic Acid B in Zhongfenghuichun Capsule by HPLC

LI Xiao-mei¹, KANG Zhi-ying¹, LIANG Yong¹, MA Yin-lian², YU Ding-rong^{2*}

(1. Guangzhou Xiangxue Pharmaceutical Co. LTD, Guangzhou 510663, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of salvianolic acid B in Zhongfenghuichun Capsule. **Method:** HPLC was used to determine the content of salvianolic acid B. A Phenomenex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was acetonitrile-1% methanoic acid (40:60). Flow rate was 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 286 nm. The injection volume was 10 μL and column temperature was kept at 30 ℃. **Result:** The calibration curve of salvianolic acid B was in good linearity over the range of 7.9-196.5 mg·L⁻¹ ($r = 0.9999$). The average recovery was 99.06% with RSD of 1.54%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reliable. It can be used for the quality control of Zhongfenghuichun Capsule.

[Key words] Zhongfenghuichun Capsule; salviandic acid B; HPLC; content determination

中风回春胶囊是由丹参、当归、川芎等多味中药经提取精制而成的现代复方制剂, 具有祛瘀止痛、活

血通经、清心除烦的功效, 现行标准无含量测定项, 目前对中风回春胶囊制剂的质量控制, 有以测定阿

[收稿日期] 20120929(006)

[第一作者] 李小妹, 执业药师, 从事药品质量研究, Tel:020-85801066, E-mail:xiaomei0735@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 于定荣, 博士, 助理研究员, 从事中药制剂与炮制研究, Tel:13436821953, E-mail:yudingrong0826@sina.com

[8] 徐国钧. 中药材粉末显微鉴定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 378.

[9] 张可锋, 李明. 白牵牛的生药鉴别研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 137.

[10] 蒋佳雯, 徐文芬, 杨亮, 等. 秋海棠属药材的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 40.

[11] 苏亦用, 郭巧玲, 田素英, 等. 金樱根质量标准研究

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 109.

[12] 景佳麟, 高慧敏, 李娆娆, 等. 关于完善《中国药典》2010年版炒槐花质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 88.

[13] 高艳珍, 付素霞. 芫花及其伪品黄芫花的鉴别[J]. 中草药, 1997, 28(5): 297.

[责任编辑 仝燕]