

炒莱菔子饮片质量与萝卜苷含量分析

苏永汶, 孟祥红, 王群, 吕文海*
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 考察 10 地市售炒莱菔子饮片质量并进行萝卜苷含量测定。方法: 采用 HPLC 和重量法对 10 地市售炒莱菔子饮片萝卜苷含量和杂质, 水溶性浸出物含量进行测定, 并按《中国药典》检测了水分与醇溶性浸出物含量。结果: 供试饮片萝卜苷含量为 8.02% ~ 3.35%, 杂质在 0.3% ~ 3.46%, 水浸出物含量在 17.32% ~ 18.59%, 水分与浸出物基本合格。结论: 莱菔子饮片质量标准宜增加杂质检测和萝卜苷含量测定项, 以有效控制其饮片质量。

[关键词] 炒莱菔子; 浸出物; 萝卜苷; 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(2011)22-0040-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110920.1433.017 **[网络出版时间]** 2011-09-20 14:33

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110920.1433.017.html>

Analysis of Glucoraphenin Content and Quality in Roasted Raphani Semen

SU Yong-wen, MENG Xiang-hong, WANG Qun, LV Wen-hai*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of glucoraphenin and inspect the quality of roasted Raphani Semen from 10 cities. **Method:** The content of glucoraphenin, impurity and water-soluble extract are determined by HPLC and gravimetric method. **Result:** The content of glucoraphenin is from 3.35% to 8.02%, and the content of impurity is from 0.3% to 3.46%. The content of water-soluble extract is from 17.32% to 18.59%. **Conclusion:** The impurities test and determination of glucoraphenin content should be added to the quality standard of roasted Raphani Semen.

[Key words] roasted Raphani Semen; extract; glucoraphenin; HPLC

莱菔子系中医常用药,有生、炒两种饮片规格。生品主升散,长于涌吐风痰,随疾病谱变化及治疗手段的进步,应用较少。临床以炒莱菔子为主流药用规格,取其性降,用于消食除胀、降气化痰之效^[1]。《中国药典》2010年版对莱菔子药材质量规定了水分、总灰分、酸不溶性灰分检查、醇溶性浸出物测定及芥子碱含量测定^[2],但饮片质量标准尚属空白。

莱菔子炒制可抑制其所含硫代葡萄糖苷分解酶

的活性,防止萝卜苷在煎煮过程中分解^[3],是莱菔子生熟升降,生熟异治药性变化的重要机制之一。炒莱菔子水煎液中萝卜苷含量是生品的 8 倍,如炒制过度则消失殆尽,证实萝卜苷含量是反映莱菔子饮片炮制程度的专属性质控指标^[4]。本文收集山东、福建、湖北等地 10 份炒莱菔子市售饮片,检测了其杂质、水分、水与醇溶性浸出物及萝卜苷含量,以期完善莱菔子饮片质量控制方法提供借鉴和依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国,安捷伦科技有限公司);SB2200 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。乙腈为色谱纯(J. T. Baker Chemical Products Trading Co. Ltd)。

1.2 供试饮片 炒莱菔子分别购于山东济南、莱

[收稿日期] 20110419(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30672665)

[第一作者] 苏永汶,院硕士研究生,E-mail:suyw163@163.com

[通讯作者] * 吕文海,教授,研究方向:饮片炮制理论与制备规范化,E-mail:luwenhaitcm@163.com

州、临沂、东营、泰安、济宁、菏泽,吉林长春,福建福州,湖北随州。经山东中医药大学药学院生药系周凤琴教授鉴定为十字花科植物萝卜 *Raphanus sativus* L. 的干燥成熟种子。供试饮片粉碎过 20 目筛,置于干燥器内平衡水分后备用。

1.3 萝卜苷对照品 自制^[3]。为淡黄色半固体油状物,易溶于水,微溶于甲醇等极性较大的有机试剂,Molish 反应呈阳性,证明其为糖苷类成分。MS 测的分子离子峰 $[M]^- m/z$ 434.0,推测化合物相对分子质量为 435,可能分子式为 $C_{12}H_{21}NO_{10}S_3$ 。

¹H-NMR (600 MHz, D₂O), 4.90 (d, 1H, J = 9.6Hz, H-1), 3.75 (dd, 1H, H-6a), 3.55 (dd, 1H, H-6b), 3.42 (m, 2H, H-3&H-5), 3.30 (t, 2H, J = 9.6Hz, H-2&H-4) 证明硫代葡萄糖苷基本母核的存在, 6.44 (d, 2H, J = 4.8Hz, H-10&H-11) 证明有不饱和 C=C 的存在, 2.79 (t, 2H, J = 7.2Hz, H-8), 2.58 (s, 1H, H-12), 2.56 (dd, 2H, H-9)。

¹³C-NMR (150 MHz, D₂O), 信号中化学位移 60 ~ 82 91.804 (C1), 72.116 (C2), 77.185 (C3), 69.108 (C4), 80.229 (C5), 60.787 (C6) 为硫代葡萄糖苷的特征吸收, 162.486 (C7) 受 S-C = N 影响去电子效应减少化学位移值最小对应, 141.469 (C10) 与 133.081 (C11) 受双键影响化学位移也较小, δ : 30.619 (C8), 28.785 (C9), 38.908 (C12)。

以上核磁共振信号与文献报道^[6]中,萝卜苷的信号基本一致,确定该化合物为萝卜苷。经 HPLC 测定,面积归一化法显示其纯度 >92%。

2 方法与结果

2.1 水分、杂质、水及醇溶性浸出物含量测定 取不同产地供试品粉末约 2 g,精密称定。分别按照《中国药典》2010 年版一部水分测定法项下甲苯法(附录 IX H 第二法)、附录 IX A 杂质测定法、附录 X A 浸出物测定法项下热浸法测定,结果见表 1。

表 1 10 市售地炒莱菔子质量检测 (n = 3)

产地	杂质	萝卜苷		水浸出物		水分		醇浸出物	
		含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD
莱州	-	3.35	1.64	17.93	0.29	7.04	2.26	16.54	3.73
济南	1.13	7.11	2.40	18.25	0.41	4.51	1.21	17.20	5.29
河北	2.48	7.77	3.51	17.47	1.01	4.46	1.70	17.96	2.79
临沂	2.07	7.96	1.25	18.59	1.80	4.92	2.51	17.36	1.70
东营	2.23	6.45	1.21	17.37	0.08	4.08	3.02	15.76	1.77
泰安	0.30	8.02	1.45	17.68	0.25	4.27	1.81	17.36	9.09
济宁	3.46	7.84	0.19	17.64	0.13	4.45	0.96	14.43	4.52
菏泽	2.44	6.89	1.96	17.69	1.34	4.45	2.33	18.13	7.82
福州	1.73	7.53	2.01	17.32	2.01	4.60	1.04	16.16	2.13
随州	1.97	7.26	1.53	17.85	1.05	4.42	2.86	15.49	8.71

2.2 供试饮片萝卜苷含量测定

2.2.1 色谱条件的选择 供试品中萝卜苷含量测定的色谱条件为 Phenomenex-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 的磷酸水溶液 (5 : 95), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 检测波长 225 nm。色谱图见图 1, 2。

2.2.2 供试品溶液的制备 取供试品粉末 1.0 g, 精密称定。置 500 mL 烧瓶中, 精密加水 250 mL, 浸泡 1.0 h, 称重。回流提取 1.0 h, 补足失重, 过滤, 滤液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取萝卜苷对照

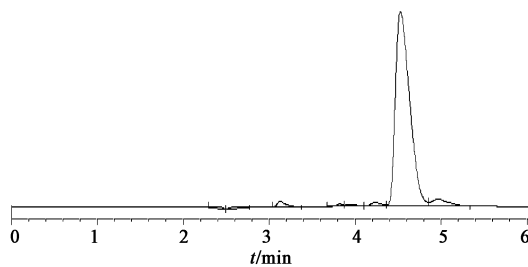


图 1 萝卜苷对照品液相图谱

品 0.015 1 g, 纯净水溶解, 定容至 10 mL。依次稀释配制成浓度为 0.755, 0.604, 0.453, 0.302, 0.151, 0.075 5, 0.037 8 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

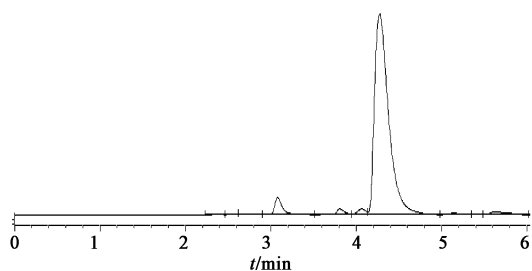


图 2 炒莱菔子样品液相图谱

2.2.4 线性关系考察 用 2.2.3 项中的对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,以峰面积 (Y) 对萝卜苷质量浓度 (X) 进行线性回归,得回归方程为 $Y = 13\ 017X + 41.195$ ($r = 1$)。表明萝卜苷在 $0.755 \sim 0.037\ 8\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,峰面积与质量浓度呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取 2.2.3 项下浓度为 $0.015\ 1\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的萝卜苷对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 5 次,测定萝卜苷的峰面积 RSD 为

0.27%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 按 2.2.2 项下方法制备炒莱菔子供试品溶液,分别于 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样,计算其萝卜苷质量分数,平均值为 8.03%, RSD 0.84%,说明供试品溶液在制备后 8 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 按 2.2.2 项下方法平行制备炒莱菔子供试品溶液 5 份,按 2.2.1 项下色谱条件进样,计算其萝卜苷平均质量分数为 7.58%, RSD 1.09%,表明方法的重复性良好。

2.2.8 加样回收率实验 精密称取 6 份已知含量的炒莱菔子样品各 0.1 g,分别精密加入一定量 $0.302\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 萝卜苷对照品,按样品测定方法处理,测定,计算加样回收率。结果见表 2,回收率平均值为 100.2%, RSD 2.01%,结果表明本方法回收率符合含量测定要求。

表 2 炒莱菔子供试品加样回收率试验

No.	样品中的含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	8.02	8.35	16.22	98.3	100.2	2.01
2	8.05	8.50	16.30	97.1		
3	8.01	8.30	16.43	101.5		
4	7.77	8.22	16.09	101.3		
5	8.12	8.28	16.46	100.8		
6	8.07	8.16	16.41	102.2		

2.2.9 不同市售炒莱菔子中萝卜苷的含量测定 分别精密称取不同市售地炒莱菔子供试品各 1 g,按 2.2.2 项下要求制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进行含量测定。结果见表 1。

3 小结与讨论

10 份市售炒莱菔子饮片检测表明,杂质有 1 份超出国家中医药管理局《中药饮片质量标准通则(试行)》中关于果实种子类饮片杂质不超过 3% 的要求。因取样在秋冬季节,测前在干燥器内存放,故样品水分低于《中国药典》2010 年版莱菔子药材 8% 的限度。醇溶性浸出物含量从 14.43% ~ 18.13% 均超过了 10% 的限度要求。水溶性浸出物含量在 17.32% ~ 18.59%,与醇溶性浸出物含量高低之间无密切相关性。莱菔子临床中以水煎剂入药为主,水浸出物测定方便易行,在检测中发现其稳定性优于醇溶性浸出物,另外,检测结果提示《中国药典》2010 年版将莱菔子药材醇浸物含量限度定为 10%,似偏低。

供试品中有一份样品为粉末,其水分偏高,萝卜苷含量最低,炒莱菔子粉碎后药用可为调剂提供方便,但易使药品气味散失,吸湿变潮泛油变质,是否与萝卜苷含量降低有内在联系,有待于进一步分析。提示炒莱菔子临床应用以遵照传统临用捣碎为宜。

鉴于种子入药的特性《中国药典》2010 年版中莱菔子药材的水分、总灰分、酸不溶性灰分检查、醇溶性浸出物测定及芥子碱含量测定,可作为生莱菔子的饮片标准使用。但芥子碱是已知降压消炎作用的成分,与莱菔子临床功效缺乏内在联系,且芥子碱在莱菔子炒制前后无明显变化^[5]。萝卜苷对热高度敏感,生用或炒制过度都会使其含量明显降低或损失殆尽,是能反映莱菔子炮制程度的专属性指标。10 份供试饮片中萝卜苷含量从 3.35% ~ 8.02%,相差 2.4 倍,与醇溶性浸出物含量高低之间无密切相关性。建议《中国药典》再版时,增加莱菔子饮片杂质检查和萝卜苷含量测定,前者方便易检,成本低,但与莱菔子药材质量密切相关,且比总灰分与酸不

通关藤药材 C21 甾体皂苷类成分特征图谱研究

李媛媛¹,倪艳²,李先荣²,卢方晋²,石任兵^{1*}

(1. 北京中医药大学,北京 100102; 2. 山西省中医药研究院方剂研究所,太原 030012)

[摘要] 目的:通过建立通关藤药材 C21 甾体皂苷类成分的特征图谱,为科学评价药材质量提供理论依据。方法:色谱条件:Sinocrom ODS-BP 分析柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),柱温室温,检测波长 223 nm,流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(32:68~85:15)梯度洗脱,流速 1 mL·min⁻¹。结果:通关藤药材指纹图谱选定了 17 个共有峰,其中 2 号峰为通关藤苷 A,建立了通关藤药材 HPLC 指纹图谱共有模式,得到不同产地通关藤药材的相似度数据。结论:建立的指纹图谱重复性好,具有较广泛的应用范围,可用于通关藤药材的 HPLC 指纹图谱评价其质量。

[关键词] 通关藤;通关藤苷 A;高效液相色谱法;指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0043-04

Study on Specific Chromatogram of Tenacissoside in *Marsdenia tenacissima*

LI Yuan-yuan¹, NI Yan², LI Xian-rong², LU Fang-jin², SHI Ren-bing^{1*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Shanxi Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China)

[Abstract] **Objective:** To develop the fingerprint of *Marsdenia tenacissima* by UV-HPLC. **Method:** The RP-HPLC was performed on a Sinocrom ODS-BP column (4.6 mm×250 mm,5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% H₃PO₄ with gradient elution. The fingerprint was detected at 223 nm. **Result:** The mutual mode of HPLC-UV specific chromatogram was set up. 14 common peaks were observed on the fingerprints of *M. tenacissima*, and the second peak was tenacissoside A. **Conclusion:** This method is simple and fast, thus it may be used for the fingerprint of *M. tenacissima*. It may also qualitatively and quantitatively reflect the content variation of the main ingredients in crude drugs, which would be helpful to improve the quality control level.

[Key words] *Marsdenia tenacissima*; tenacissoside A; HPLC; fingerprints

[收稿日期] 20110614(009)

[基金项目] 山西省青年科技研究基金(2009021040-2);山西省卫生厅科技攻关计划项目(200915)

[第一作者] 李媛媛,博士研究生,从事中药化学方面的研究,E-mail:lyy8298@eyou.com

[通讯作者] *石任兵,教授,博士生导师,E-mail:shirb@126.com

溶性灰分检查简单易行;萝卜苷含量测定能代表莱菔子的传统功效和控制其炒制程度,比芥子碱含量测定更能反映莱菔子的炮制质量。

[参考文献]

- [1] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2005:109.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:255.
- [3] 吕文海,任涛,苏永汶,等. 炮制抑制莱菔子中萝卜苷酶解转化的初步实验研究[J]. 中国中药杂志,2011,36

(8):980.

- [4] 吕文海,任涛,孟祥红,等. 莱菔子饮片中萝卜苷含量测定方法的研究[J]. 中成药,2011,33(9):1563.
- [5] 谭鹏. 莱菔子炮制工艺与质量控制方法研究[D]. 济南:山东中医药大学,2005.
- [6] Renato I, Jessica B, Estelle G, et al. Thio-functionalised glucosinolates: unexpected transformation of desul fo glucoraphenin[J]. Tetrahedron Letters,2008,49:292.

[责任编辑 蔡仲德]