

· 药剂与炮制 ·

基于市售侧柏炭饮片质量问题探讨其“炒炭存性”的质控标准

石典花^{1,2}, 宗珊珊¹, 王军³, 戴衍朋², 张军², 孙立立², 张学兰^{1*}

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 济南 250014;
3. 山东省妇幼保健院, 济南 250014)

[摘要] 目的:对市售侧柏炭质量进行考察,探讨侧柏叶“炒炭存性”的控制标准。方法:采用 2015 年版《中国药典》(一部)中方法对市售侧柏炭饮片的性状、水分、醇溶性浸出物含量进行检测,同时进行槲皮素的薄层色谱法(TLC)鉴别和有效成分槲皮苷、槲皮素的含量测定。结果:12 批市售不同产地侧柏炭饮片中有 9 批炒炭程度较 2015 年版《中国药典》的标准重。建议对 2015 年版《中国药典》中 TLC 鉴别的展开条件进行修订,以避免展开剂分层;炒炭程度不同对侧柏炭所含槲皮苷和槲皮素含量的影响各异;同时检出槲皮苷和槲皮素可作为侧柏炭质量控制指标之一。结论:市售侧柏炭饮片大多存在炒炭程度过重的质量问题;建立的侧柏叶“炒炭存性”质控标准可用于有效保障侧柏炭饮片的质量。

[关键词] 侧柏叶; 侧柏炭; 薄层色谱法; 槲皮素; 槲皮苷; 炒炭存性

[中图分类号] R22;R28;R931;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)03-0021-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182110

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180822.1024.006.html>

[网络出版时间] 2018-08-23 11:43

Analysis of Quality Control Standard of “Carbonizing Retains Characteristics” Based on Quality Investigation of Commercial Platycladi Cacumen Carbonisata Pieces

SHI Dian-hua^{1,2}, ZONG Shan-shan¹, WANG Jun³, DAI Yan-peng², ZHANG Jun²,
SUN Li-li², ZHANG Xue-lan^{1*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;
2. Shandong Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China;
3. Shandong Maternal and Child Health Care Hospital, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the quality of Platycladi Cacumen carbonisata pieces in the market, then to explore control standard of “carbonizing retains characteristics” of Platycladi Cacumen. **Method:** The properties, water content and alcohol extract content of commercial Platycladi Cacumen carbonisata pieces were determined by the method in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. Thin layer chromatography (TLC) identification of quercetin and contents of quercetin and quercitin were determined. **Result:** The carbonizing degree of 9 batches of Platycladi Cacumen carbonisata pieces were heavier than which is specified in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. The conditions of TLC identification in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia* should be revised to avoid stratification; the carbonizing degree could affect the contents of quercetin and quercitin in Platycladi Cacumen carbonisata pieces; the simultaneous detection of quercetin and quercitin can be used as one of the quality control indexes of this carbonisata pieces. **Conclusion:** Most of

[收稿日期] 20180323(025)

[基金项目] 国家科技基础性工作专项(2014FY111100-9); 国家中医药管理局中药炮制技术传承基地建设项目; 山东省中医药科技发展项目(2017-130, 2015-173)

[第一作者] 石典花, 在读博士, 副研究员, 从事中药炮制学研究, Tel:0531-82949829, E-mail: shidianhua81@163.com

[通信作者] * 张学兰, 博士生导师, 教授, 从事中药饮片制备技术与质量控制研究, Tel:0531-89628081, E-mail: zhang8832440@sina.com

commercial Platycladi Cacumen carbonisata pieces have the quality problem of excessive carbonizing degree, the established quality control standard of “carbonizing retains characteristics” can be used to effectively ensure the quality of Platycladi Cacumen carbonisata pieces.

[**Key words**] Platycladi Cacumen; Platycladi Cacumen carbonisata; thin layer chromatography; quercetin; quercitin; carbonizing retains characteristics

侧柏叶多在夏、秋二季采收,阴干,经炒炭制成侧柏炭。侧柏炭形如侧柏叶,表面黑褐色。质脆,易折断,断面焦黄色。侧柏炭味苦、涩,性寒,归肺、肝、脾经。据报道,侧柏炭含有挥发油类^[1]、黄酮类^[2-3]、鞣质类^[4]等成分,其中黄酮类化合物为主要成分。目前该饮片含量测定的指标成分多为槲皮苷或槲皮素^[5-6],其中槲皮素是侧柏叶炒炭后明显增加的成分。侧柏叶生品多用于血热妄行的吐血衄血、咳喘及脱发,经炒炭后则偏于收涩止血,多用于各种出血症^[7]。

本课题组通过前期市场调研及地榆炭、艾叶炭、升麻炭等多种炭药饮片收集,发现目前市售炒炭饮片质量多不合格,炒炭程度较 2015 年版《中国药典》规定的标准要重,这可能与 2015 年版《中国药典》收录的炭药标准相对不完善有一定关系^[8]。基于此,本实验对临床常用于出血症的市售侧柏炭饮片进行质量考察,在发现并总结相关问题的基础上,结合传统外观性状对侧柏炭质控标准进行改进,建立了侧柏叶“炒炭存性”的质控标准,为完善该饮片的质量标准体系提供实验依据和参考。

1 材料

e2695 型高效液相色谱仪[美国 Waters 公司,含 2996 型二极管阵列检测器(DAD)],XS205DU 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),WFH-201B 型紫外透射反射仪(上海精科实业有限公司),DHG-9146 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。槲皮素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 00819304,纯度 98%),槲皮苷对照品(成都普瑞法科技开发有限公司,批号 16022001,纯度 98%),硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工工厂,厚度 0.20 ~ 0.25 mm,批号 20110508),水为纯净水,甲醇、磷酸、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;侧柏炭饮片购自山东、安徽、河北、浙江等地,经山东省中医药研究院中药资源研究室林慧彬研究员鉴定为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* 的枝梢及叶的炒炭品,详细信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 外观性状鉴别 12 批市售不同产地批次侧柏

表 1 侧柏炭饮片的产地、来源及批号

Table 1 Origin, source and batch number of Platycladi Cacumen carbonisata pieces

样品	产地	样品来源	批号
1	山东	枣庄市中医医院	-
2	安徽	亳州市鉴证贸易有限公司	2017030201
3	山东	济南市中医医院	-
4	山东	安徽捷众生物化学有限公司	1603064
5	山东	亳州成源中药饮片有限公司	20160901
6	安徽	安徽福康药业有限公司	-
7	山东	山东百味堂中药饮片有限公司	170402
8	河北	安徽广印堂中药股份有限公司	160511
9	安徽	亳州市常富药业有限公司	2017040203
10	山东	安国弘发中药材饮片有限公司	130902
11	浙江	浙江中医药大学中药饮片有限公司	170501
12	河北	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	20121201

炭饮片的外观见图 1。结果发现 9 批侧柏炭的炒炭程度较 2015 年版《中国药典》的标准重,仅 3 批(样品 3,9,11)饮片的炒炭程度基本符合 2015 年版《中国药典》的标准,说明大多数市售侧柏炭饮片存在炮制程度过重的现象。

2.2 薄层色谱法(TLC)鉴别 照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0502 的 TLC 对不同地区市售侧柏炭饮片进行鉴别。取本品粉末 4.0 g,加甲醇 20 mL,超声处理 1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取槲皮素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 2 种溶液各 10 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上。2015 年版《中国药典》中以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:2:1)为展开剂,但实验过程中发现,此展开剂在展开过程中会出现分层现象,故对展开剂进行了改进,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:2:1)上层液为展开剂展开。取出,晾干,喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液,置紫外光灯(365 nm)下检视,见图 2。结果 12 批侧柏炭供试品色谱中,在与槲皮素对照品色谱相应的位置上,仅样品 3,9,11 中槲皮素斑点清晰,样品 5,7,10,12 在槲皮素相应位置上略显相同

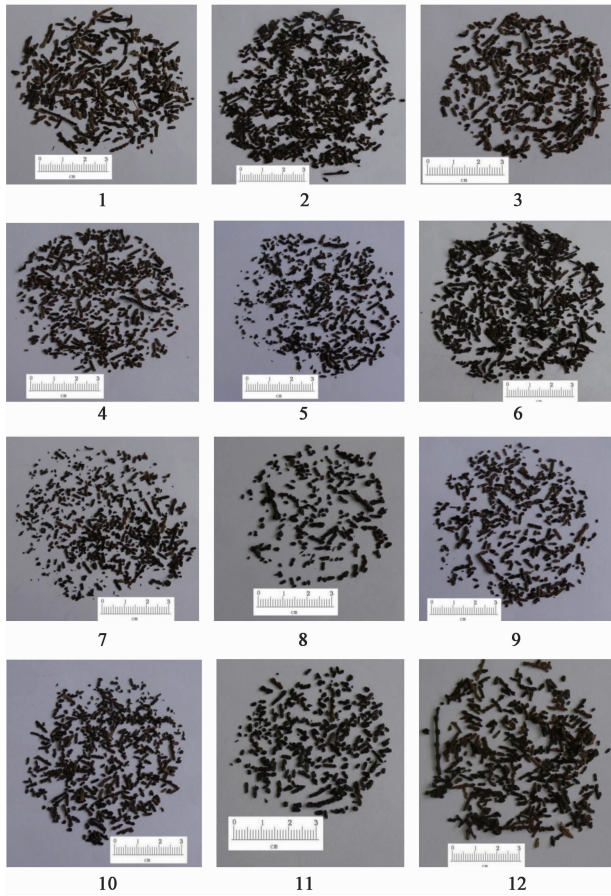
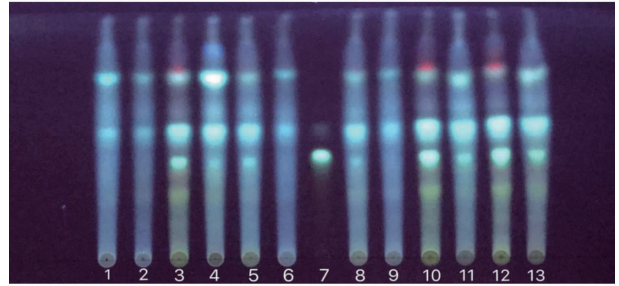


图 1 12 批市售侧柏炭饮片的外观
Fig. 1 Appearance of 12 batches of commercial *Platycladi Cacumen carbonisata* pieces

颜色的斑点。



1. 样品 1; 2. 样品 2; 3. 样品 3; 4. 样品 4; 5. 样品 5; 6. 样品 6; 7. 槲皮素对照品; 8. 样品 7; 9. 样品 8; 10. 样品 9; 11. 样品 10; 12. 样品 11; 13. 样品 12

图 2 12 批市售侧柏炭饮片的 TLC (365 nm)

Fig. 2 TLC of 12 batches of commercial *Platycladi Cacumen carbonisata* pieces (365 nm)

2.3 检查 12 批侧柏炭的杂质率见表 2。照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0832 水分测定法中的第四法(甲苯法)测定 12 批侧柏炭饮片的水分含量,结果见表 2。照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 2201 项下的醇溶性浸出物测定法(热浸法)测定侧柏炭饮片的醇溶性浸出物含量,用乙醇作溶剂,结果见表 2。

由表 2 可知,12 批侧柏炭中杂质有泥沙、果实、枝干或其他植物等,其中杂质率最高达到 17.48%,仅有 1 批侧柏炭杂质率 < 3%,符合 2015 年版《中国

表 2 12 批侧柏炭饮片的杂质率、水分、醇溶性浸出物、槲皮素及槲皮苷质量分数 ($n = 2$)

Table 2 Impurity rate, water content, alcohol extract, quercetin and quercitin contents of 12 batches of commercial *Platycladi Cacumen carbonisata* pieces ($n = 2$)

样品	杂质率 / %	杂质种类	水分 / %	醇溶性浸出物 质量分数 / %	槲皮素质量 分数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	槲皮苷质量 分数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	4.35	果实	4.59	10.98	0.05	-
2	8.23	果实、枝干	6.72	9.38	0.03	-
3	10.87	枝干、果实、生品、泥沙	6.77	16.60	0.52	0.04
4	4.05	果实、枝干	6.22	10.55	0.09	-
5	10.62	果实、枝干、泥沙	5.01	13.24	0.17	-
6	9.02	枝干、果实	6.34	10.24	0.04	-
7	11.12	果实、泥沙	5.74	14.37	0.19	-
8	2.31	果实、枝干	6.09	10.92	0.09	-
9	17.48	枝干、果实、其他植物、泥沙	6.33	16.45	0.72	0.03
10	6.99	果实	4.96	13.15	0.19	-
11	3.25	枝干	4.88	15.91	0.60	0.06
12	4.64	果实、枝干	6.32	13.21	0.26	0.03

药典》的规定。12 批侧柏炭的水分在 4.59% ~

6.77%, 均符合 2015 年版《中国药典》水分不得过

11.0% 的规定。12 批侧柏炭醇溶性浸出物质量分数在 9.38% ~ 16.60%，其中 9 批样品的醇溶性浸出物含量低于 2015 年版《中国药典》规定，仅炒炭程度基本符合规定的 3 批侧柏炭符合规定。初步说明侧柏炭醇溶性浸出物含量的下降幅度与侧柏叶炒炭程度有关，炒炭越重，浸出物含量越低。

2.4 侧柏炭饮片中心槲皮素、槲皮苷的含量测定^[9-10]

2.4.1 系统适应性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇-乙腈-磷酸-水(32:12:1:72)为流动相，检测波长 254 nm。理论板数按槲皮苷峰计算不低于 1 500，按槲皮素峰计算不低于 2 500。

2.4.2 对照品溶液的制备 分别精密称取槲皮素和槲皮苷对照品适量，分别加甲醇制成每 1 mL 含 15 μg 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备与测定 取侧柏炭粉末约 0.5 g，精密称定，置具塞三角烧瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声处理(功率 300 W，频率 45 kHz)30 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜，得供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL 进样分析，见表 2。结果表明 12 批侧柏炭的槲皮素质量分数在 0.03 ~ 0.72 mg·g⁻¹ [根据课题组之前建立的侧柏炭中槲皮素含量标准，按干燥品计算，本品 1 g 含槲皮素(C₁₅H₁₀O₇)不得少于 0.15 mg]，其中有 7 批样品中槲皮素的含量符合标准；仅炒炭程度相对较轻的 4 批侧柏炭检出了槲皮苷，但含量较低。

2.5 基于不同炒炭程度侧柏炭质量研究探讨“炒炭存性”标准 前期研究表明侧柏叶炒炭后槲皮苷明显降低，而槲皮素明显增加，利用这一特性，结合侧柏炭传统外观性状，初步建立了侧柏叶“炒炭存性”的质控标准，即在符合侧柏炭传统外观性状的前提下，以槲皮苷、槲皮素为对照品，对侧柏炭进行 TLC 鉴别，炒炭适中的侧柏炭应同时检出槲皮苷和槲皮素，含量测定也应同时检测出这 2 种成分的含量。

2.5.1 不同炒炭程度侧柏炭的制备 取净侧柏叶 100 g(采自山东济南佛慧山)，置电热控温炒药机内，于相同温度(220 ℃)和不同加热时间(8, 10, 12, 23 min)分别炒制 4 个不同程度的侧柏炭各 2 份，生品及不同炒炭程度侧柏炭饮片见图 3，计算收得率分别为 88.7%，88.1%，84.2%，78.2%。外观性状分别为表面浅棕褐色，断面浅黄色；表面棕褐色，断面焦黄色；表面黑褐色，断面焦黄色；表面亮黑色，断

面黑褐色。炒炭程度分别为较轻、轻、适中、重。

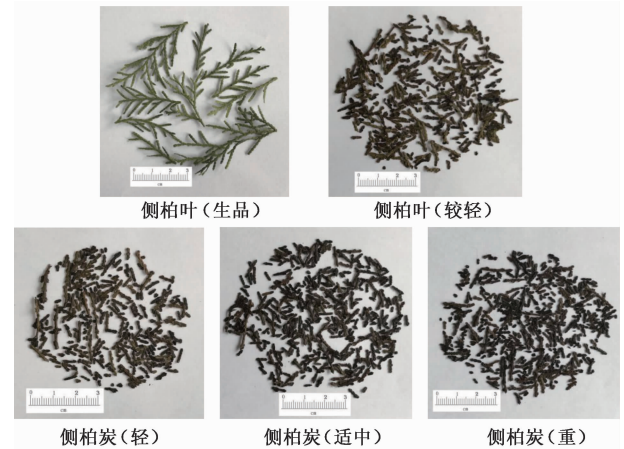
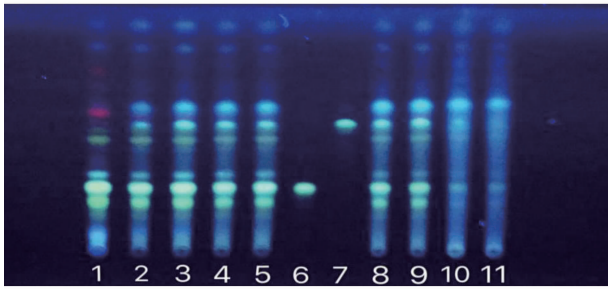


图 3 侧柏叶及不同炒炭程度侧柏炭的外观

Fig. 3 Appearance of *Platycladi Cacumen* and *Platycladi Cacumen carbonisata* pieces with different carbonizing degree

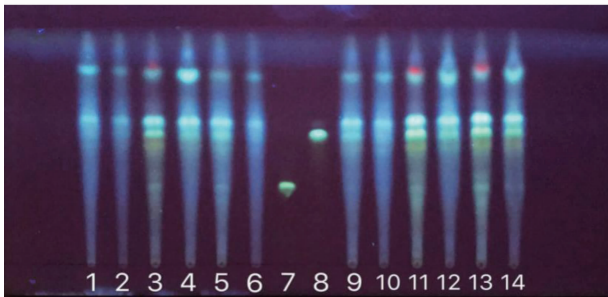
2.5.2 槲皮苷、槲皮素的 TLC 鉴别 照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0502 的 TLC 对侧柏叶及不同炒炭程度侧柏炭进行鉴别。取本品粉末 1 g，加 70% 甲醇 20 mL，超声处理 30 min，放冷，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 2 mL 使溶解，作为供试品溶液。取槲皮苷、槲皮素对照品适量，加乙醇分别制成质量浓度为 0.1 g·L⁻¹ 的对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 3 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂，展至约 3 cm，取出，晾干，再以甲苯(水饱和)-甲酸乙酯-甲酸(4.5:4.5:1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 1% 三氯化铝试液，100 ℃ 加热 5 min，置紫外光灯(365 nm)下检视，见图 4，结果发现生品供试品色谱中在与槲皮苷相应位置上显相同颜色的荧光斑点，而槲皮素斑点不明显；除炒重炭外的不同炒炭程度侧柏炭在与槲皮苷和槲皮素相同位置上均显相同颜色的荧光斑点。同时还可看出，炒炭对槲皮苷和槲皮素均有明显影响，并显示出一定的相关性，随炒炭程度的加重，槲皮苷逐渐降低，槲皮素逐渐增加，但当炒炭过重到一定程度时，槲皮苷、槲皮素均损失殆尽。运用上述新建的 TLC 对市售 12 批侧柏炭饮片进行 TLC 鉴别，见图 5。结果发现该方法能够将炒炭程度相对适中的样品 3, 9, 11 的槲皮素斑点检出，但槲皮苷斑点不甚明显。因此，该鉴别方法可快速、直观地看出侧柏炭中有效成分是否损失殆尽，可作为评价侧柏叶“炒炭存性”的质控标准之一。

2.5.3 样品测定 采用 2.4 项下方法测定生品及不同炒炭程度的侧柏炭饮片中槲皮素、槲皮苷含量，



1. 侧柏叶(生品);2,3. 侧柏炭(较轻);4,5. 侧柏炭(轻);6. 槲皮苷对照品;7. 槲皮素对照品;8,9. 侧柏炭(适中);10,11. 侧柏炭(重)
图 4 侧柏叶及不同炒炭程度侧柏炭的 TLC(365 nm)

Fig. 4 TLC of Platycladi Cacumen and Platycladi Cacumen carbonisata pieces with different carbonizing degree(365 nm)



1. 样品 1;2. 样品 2;3. 样品 3;4. 样品 4;5. 样品 5;6. 样品 6;7. 槲皮苷对照品;8. 槲皮素对照品;9. 样品 7;10. 样品 8;11. 样品 9;12. 样品 10;13. 样品 11;14. 样品 12

图 5 新方法下 12 批市售侧柏炭饮片的 TLC(365 nm)
Fig. 5 TLC of 12 batches of commercial Platycladi Cacumen carbonisata pieces under new method(365 nm)

见表 3。结果表明随着炒炭程度的加重,槲皮苷呈下降趋势,槲皮素呈现先增加后下降的趋势,当炒炭过重时槲皮素和槲皮苷均消失殆尽。

3 讨论

3.1 市售侧柏炭的质量考察 12 批市售侧柏炭饮片的性状有 9 批样品的炒炭程度较 2015 年版《中国药典》标准重,说明市售侧柏炭饮片存在一定的质量问题。杂质检查发现仅 1 批样品的杂质率 < 3.0%。TLC 鉴别发现在与槲皮素对照品色谱相应的位置上,仅 3 批样品显示,4 批样品隐约显示出相同颜色的荧光斑点。醇溶性浸出物测定仅有 3 批符合 2015 年版《中国药典》的规定,含量测定结果表明仅上述 3 批侧柏炭饮片中槲皮素含量明显高于其他样品,该结果与 TLC 鉴别、浸出物测定结果一致,说明浸出物含量和槲皮素、槲皮苷含量之间存在一定的正相关,侧柏炭外观质量与其内在质量具有一致性。综合可见,市售 12 批侧柏炭饮片中仅有 3 批勉强符合 2015 年版《中国药典》收录的侧柏炭质量

表 3 侧柏叶及不同炒炭程度侧柏炭炭片中槲皮苷、槲皮素的含量测定

Table 3 Contents of quercetin and quercetin of Platycladi Cacumen and Platycladi Cacumen carbonisata pieces with different carbonizing degree

样品	炒炭程度	槲皮素质量分数	槲皮苷质量分数
侧柏叶	-	-	4.49
		-	4.25
侧柏炭	较轻	0.63	1.76
		0.67	1.73
	轻	0.86	1.00
		0.90	0.97
	适中	0.93	0.54
		0.91	0.51
重	-	-	
	-	-	

标准的要求,说明市售侧柏炭存在较为严重的质量问题,原因可能与其产地、侧柏叶净制、炒炭程度或存放时间长短有关,其中主要与炒炭程度过重有关。

3.2 侧柏炭相关标准的商榷 ①针对市售侧柏炭饮片外观质量存在杂质过高问题,2015 年版《中国药典》规定生品杂质率不得过 6%,炭品杂质率是否应与其一致? 笔者建议对侧柏炭饮片增加杂质率的限量。②2015 年版《中国药典》对侧柏炭中槲皮素的 TLC 鉴别中展开剂描述为以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:2:1)为展开剂,试验发现该展开剂溶液会出现分层,应用该展开剂展开后在紫外光灯下显示出了多个溶剂前沿,故本研究对其进行了改进,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:2:1)的上层溶液为展开剂。③针对市售侧柏炭存在炒炭过重的现象,根据侧柏叶炒炭后槲皮苷明显降低、槲皮素明显增加的现象,并结合侧柏炭传统外观性状,本文建立了采用二次展开法,同时快速、准确检出侧柏叶中槲皮苷、槲皮素 TLC 鉴别方法,该方法可作为侧柏叶“炒炭存性”的质控指标之一。

3.3 侧柏炭“炒炭存性”质控标准的探讨 由侧柏叶和不同炒制程度侧柏炭饮片中槲皮苷、槲皮素 TLC 鉴别和 HPLC 含量测定可知,炒炭程度对槲皮苷和槲皮素均会产生明显影响,并显示出了一定的相关性,随着炒炭程度的加重,槲皮苷逐渐降低,而槲皮素逐渐增加,当炒炭加重到一定程度时,槲皮苷、槲皮素均呈下降趋势,直至损失殆尽。这进一步验证了所建立的侧柏叶“炒炭存性”标准的可行性。

中药炒炭,关键是“存性”。但在实际炮制过程中,对“存性”的把握因没有统一的标准,致使其程度不一,进而影响临床疗效。本文以侧柏叶炒炭前后的成分变化出发,结合传统外观质量要求,以侧柏叶原有成分(槲皮苷)和炒炭后含量明显增加的成分(槲皮素)作为其“炒炭存性”的质控指标,初步从化学成分角度解析和控制传统炭药要求的“炒炭存性”,以期有效解决市售侧柏炭存在的诸多质量问题提供参考。

[参考文献]

[1] 孙立靖,谢英渤. 色质联用分析炮制工艺对侧柏叶挥发油的影响[J]. 山东师范大学学报:自然科学版, 2001,16(3):357-360.
[2] 罗世恒,陈世忠,王月茹,等. HPLC法测定侧柏叶中杨梅苷的含量[J]. 陕西中医学院学报,2010,33(3):85-86.
[3] 陈学松,张涛. 侧柏叶不同炮制品中槲皮苷含量的比较[J]. 中国中药杂志,2006,31(10):847-849.

[4] 曾祥丽,丁安伟,单鸣秋. 侧柏叶炮制前后鞣质的含量测定[J]. 中国中医药信息杂志,2008,15(4):45-46.
[5] 吴怀恩,甄汉深,韦志英,等. RP-HPLC法同时测定侧柏叶炭中槲皮素和山柰素的含量[J]. 中国药房,2009,20(12):934-935.
[6] 江波,孙立立,杨书斌,等. HPLC测定侧柏炭中槲皮苷和槲皮素的含量[J]. 中成药,2005,27(7):792-794.
[7] 谭晓亮,李瑞海,贾天柱. 侧柏叶炮制前后成分的对比[J]. 实用药物与临床,2015,18(11):1359-1362.
[8] 万军,周霞,吴纯洁. 中国药典中的炭药质量标准浅析[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(11):1635-1636.
[9] 黄樱华,黄月纯,魏刚,等. 正交试验法筛选侧柏叶总黄酮的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(11):34-37.
[10] 孙立立,杨书斌,江波,等. 炮制对侧柏叶化学成分的影响[J]. 中成药,2006,28(6):821-823.

[责任编辑 刘德文]