

市售草蒲黄的质量考察及质量控制标准的探讨

王敏春,王云霞,王苑桃,谢志民,张亚锋

(西安市药品检验所,陕西 西安 710054)

摘要:目的 考察市售草蒲黄质量,探讨质量控制方法。方法 通过对市售草蒲黄性状、显微特征、水分、灰分、酸不溶性灰分、浸出物、花粉量、薄层色谱、香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷量的检测,考察市售草蒲黄质量,探讨质量控制方法。结果 不同批次草蒲黄的水分、灰分、酸不溶性灰分、浸出物、花粉量、香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷量都存在差异,显微特征、薄层色谱鉴别可用于真伪鉴别,高效液相色谱法可用于其香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷的定量测定。结论 所考察的项目,不同批次之间差异明显,可作为市售草蒲黄质量控制标准的依据。

关键词:草蒲黄;质量考察;香蒲新苷;异鼠李素-3-O-新橙皮苷

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0132-03

蒲黄是常用中药,性平味甘,功能止血、化瘀、通淋;用于吐血,衄血,咯血,崩漏,外伤出血,经闭痛经,脱腹刺痛,跌扑肿痛,血淋涩痛^[1]。《中国药典》2005年版(一部)规定:“夏季采收蒲棒上部的黄色雄花序,晒干后碾扎,筛取花粉。剪取雄花后,晒干,成为带有雄花的花粉,即为草蒲黄”。由此可见,狭义的蒲黄应为香蒲属植物的纯花粉,而草蒲黄则为带有雄花的花粉。调查发现市场销售的蒲黄绝大多数为草蒲黄,蒲黄质量标准多有研究^[2],而草蒲黄尚无质量控制方法。本实验通过对市售草蒲黄性状、显微特征、水分、灰分、酸不溶性灰分、浸出物、花粉量、薄层色谱、定量测定等的考察,初步对市售草蒲黄质量控制方法进行了研究。结果表明,上述项目能有效控制市售草蒲黄的质量。

1 仪器、试剂与药材

KQ-300DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),BT124S型分析天平(Sartorius德国),高效液相色谱仪(岛津LC-2010A),薄层色谱板:自动薄层铺板仪自制。

异鼠李素(批号110860-200205)、异鼠李素-3-O-新橙皮苷(批号111571-200301)、香蒲新苷(批号111573-200402)对照品购自中国药品生物制品检定所,薄层色谱硅胶:青岛海洋化工有限公司。试剂均为分析纯。草蒲黄药材分别由西安盛兴中药饮片公司、陕西凯兴中药饮片公司、陕西香菊制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 性状:本品为棕褐色纤维状粗粉与黄色粉末混合物,体轻,放水中则漂浮水面,手捻黄色粉末有滑腻感,易附着手指上。气微,味淡。

2.2 显微特征:取本品粉末,装片,置显微镜下观察。花粉粒呈类圆形或椭圆形,表面有网状雕纹;周边轮廓光滑,呈凸波状或齿轮状,具单孔,不甚明显(有的明显);花粉囊内壁细胞表面观略呈条状,细胞界线不明显,有不规则螺旋状纹理。苞片碎片无色或淡棕黄色,表面观细胞呈长条形,排列紧密,壁薄,有的胞腔内含黄棕色物。草酸钙针晶大多成束存在于药隔或花丝薄壁细胞中。

2.3 花粉量的测定:取供试品30~50g,称定质量(准确至0.01g),通过9号药筛,根据筛掉物质的质量,计算供试品中花粉量。结果见表1。

2.4 水分测定法、总灰分测定法、酸不溶性灰分测定法、浸出物测定法(乙醇作为溶剂)参照《中国药典》2005年版(一部)附录。样品检查结果见表1。

2.5 薄层色谱鉴别^[1,3]

2.5.1 异鼠李素的鉴别:取蒲黄药材粉末2g,加甲醇30mL,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2mL使溶解,作为供试品溶液。另取异鼠李素对照品,加甲醇制成1mg/mL的溶液,作为对照品溶液。吸取供试品溶液与对照品溶液各6μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(20:3:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以3%三氯化铝乙醇溶液,在105℃加热数分钟,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的

收稿日期:2009-06-05

基金项目:陕西省食品药品监督管理局《陕西省中药炮制规范》资助项目

作者简介:王敏春(1964—),女,副主任药师,研究方向为中药检验及质量研究。Tel:(029)85534542

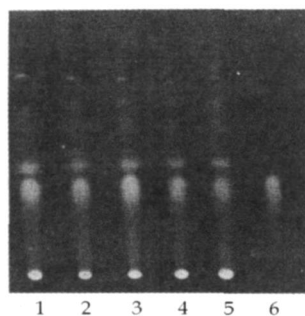
*通讯作者:张亚锋 E-mail:yafeng78@163.com

位置上,显相同颜色的荧光斑点。不同批次样品色谱 基本一致,说明本鉴定方法稳定可靠,结果见图 1。

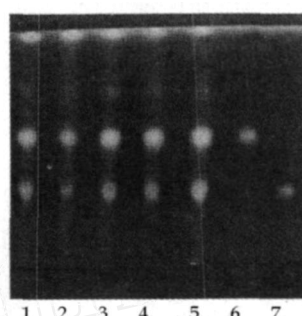
表 1 花粉量、水分、灰分、酸不溶性灰分、浸出物、有效成分定量测定结果

Table 1 Determination of pollen, moisture, total ashes, acid-insoluble ashes, ethanol-soluble extract, and active constituents

编号	来源	批号	质量分数/ %						
			花粉	水分	灰分	酸不溶性灰分	浸出物	香蒲新苷	异鼠李素-3-O-新橙皮苷
1	陕西香菊制药有限公司	1	65.48	7.40	9.57	4.44	17.73	0.24	0.28
2	陕西香菊制药有限公司	2	49.72	7.66	10.71	6.51	13.74	0.19	0.21
3	西安盛兴中药饮片公司	070801	36.05	5.70	14.21	8.90	16.69	0.21	0.26
4	西安盛兴中药饮片公司	071225	47.21	7.01	26.29	18.54	12.55	0.24	0.28
5	陕西凯兴中药饮片公司	1	55.51	7.19	18.30	11.67	16.10	0.33	0.33



1~5 编号同表1 6-异鼠李素
1-5-numbers same to Table 1
6-isorhamnetin



1~5 编号同表1
6-异鼠李素-3-O-新橙皮苷
7-香蒲新苷
1-5 numbers same to Table 1
6-isorhamnetin-3-O-
neohesperidoside
7-typhaneoside

图 1 草蒲黄样品和异鼠李素薄层色谱图

Fig. 1 TLC of staminate flower samples and isorhamnetin

2.5.2 异鼠李素-3-O-新橙皮苷、香蒲新苷的鉴别:

取异鼠李素-3-O-新橙皮苷、香蒲新苷对照品,加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取 2.5.1 项下供试品溶液与对照品溶液各 6 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5 3 1 1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 3%三氯化铝乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热数分钟,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的荧光斑点。不同批次样品色谱基本一致,说明本鉴定方法稳定可靠,结果见图 2。

2.6 香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷的定量测定

2.6.1 色谱条件:色谱柱为瑞典 Kromsil C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4 mm, 5 μ m);流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(12 88);体积流量为 1.0 mL/min;进样量为 10 μ L;检测波长为 254 nm。

2.6.2 对照品溶液制备:精密称香蒲新苷对照品 15.05 mg、异鼠李素-3-O-新橙皮苷对照品 15.20 mg,分别置于 2 mL 量瓶中,用甲醇溶液稀释到刻度,摇匀,作为对照品储备液。分别精密吸取上述贮备液 1.0 mL,置同一 25 mL 量瓶中,用甲醇溶液稀释到刻度,摇匀,作为对照品混合溶液。

图 2 草蒲黄样品、异鼠李素-3-O-新橙皮苷和香蒲新苷色谱图

Fig. 2 TLC of staminate flower sample, isorhamnetin-3-O-neohesperidoside, and typhaneoside

2.6.3 供试品溶液制备:取本品约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇约 45 mL,超声处理(功率 250 W,频率 20 kHz)30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.6.4 线性关系的考察与标准曲线绘制:精密吸取上述对照品混合溶液 0.20、0.25、0.50、1.2、3.5、10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶液稀释到刻度,摇匀,精密吸取各 10 μ L 注入液相色谱仪,按“2.6.1”项下色谱条件测定峰面积,以峰面积的积分值为纵坐标(Y),对照品溶液的质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线。得到回归方程:

香蒲新苷: $Y = 1.4458 \times 10^4 X + 5.2236 \times 10^2$, $r = 0.9997$,表明香蒲新苷在 6.0 ~ 301.0 μ g/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

异鼠李素-3-O-新橙皮苷: $Y = 1.8430 \times 10^4 X - 2.4183 \times 10^2$, $r = 0.9996$,表明异鼠李素-3-O-新橙皮苷在 7.6 ~ 304.0 μ g/mL 呈良好的线性关系。

2.6.5 精密度试验:取样品(凯兴)按 2.6.3 项下的方法制备供试品溶液,按 2.6.1 项下的色谱条件重复进样 5 次,香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷的峰面积的 RSD 分别为 1.36% 和 1.15%。

2.6.6 稳定性试验:精密吸取当日配制的供试液(凯兴)于 0、1、6、12、24 h 分别按 2.6.1 项下的色谱条件进样分析,测得香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷的峰面积的 RSD 分别为 0.79 %和 1.02 %,结果表明,样品供试液 24 h 内稳定性良好。

2.6.7 重现性试验:取同批样品(凯兴)5 份,按 2.6.3 项下的方法制备供试品溶液,并按 2.6.1 项下的色谱条件进样分析,根据峰面积计算质量分数的 RSD 均小于 2.00 %。

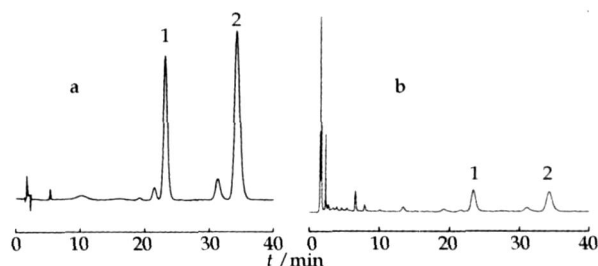
2.6.8 回收率试验:取已知量样品(凯兴),定量加入香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷对照品混合溶液,按 2.6.1 项下色谱条件,依法测定,香蒲新苷的加样平均回收率为 100.6 %,RSD($n=6$)为 1.25 %,异鼠李素-3-O-新橙皮苷的加样平均回收率为 99.5 %,RSD($n=6$)为 1.13 %,表明本方法回收率较好。

2.6.9 定量测定结果:分别取不同厂家的草蒲黄,按 2.6.3 项下的方法制备供试品溶液,按 2.6.1 项下的色谱条件进样,测定峰面积,根据标准曲线计算样品中香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷的量,定量测定结果见表 1, HPLC 色谱图见图 3。

3 讨论

3.1 草蒲黄中主要药效部分为花粉,花粉直径为 17~29 μm ,故能通过 9 号药筛(75 ± 4.1) μm 者为花粉。花粉量高者质量上乘。

3.2 市售草蒲黄中有将泥沙或其他植物、矿物染色后混入其中,故增加显微鉴定、总灰分和酸不溶性灰分测定,能有效控制其质量。测定的结果对草蒲黄药材的质量评价具有一定的参考价值,并为草蒲黄的质量控制提供了依据。



1-香蒲新苷 2-异鼠李素-3-O-新橙皮苷

1-typhaneoside 2-isorhamnetin-3-O-neohesperidoside

图 3 对照品 (A) 与样品 (B) 色谱图

Fig. 3 Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

3.3 薄层色谱法是一种灵敏度较高的鉴别方法。《中国药典》2005 年版(一部)中有蒲黄的薄层鉴别,笔者进行了参考。研究中发现,《中国药典》中有多处不合理的地方进行了改进,相关研究结果已发表^[4]。该方法专属性强、主斑点清晰、分离度高、节约试剂,而且操作简便,为草蒲黄的鉴别提供了一种准确、有效的新方法。

3.4 草蒲黄中香蒲新苷和异鼠李素-3-O-新橙皮苷具专属性且量较高,采用 HPLC 法测定其量,方法简便、快速、灵敏度高、重现性好,可作为草蒲黄药材的质量控制指标。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 饶伟文. 市售蒲黄的质量考察[J]. 中草药, 2000, 31(4): 299-300.
- [3] 张水寒, 王实强, 刘春海, 等. 蒲黄药材的质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(3): 136-139.
- [4] 张亚锋, 艾芸, 谢志民. 《中国药典》蒲黄薄层鉴别方法的验证考察[J]. 中药材, 2009, 32(2): 206-208.

《中草药》、《中国药学杂志》及陈新谦、陈常青 荣获“新中国 60 年有影响力的期刊及期刊人”

为纪念新中国诞辰 60 周年,表彰和鼓励对期刊事业做出重要贡献的期刊和期刊工作者,总结经验,促进期刊行业健康发展,中国期刊协会、中国出版科学研究所联合举办了“新中国 60 年有影响力的期刊及期刊人”推选活动。经过各地、各行业期刊协会和专家评审委员会的严格评审,中国药学会主办期刊《中草药》、《中国药学杂志》及《中国药学杂志》副主编陈新谦、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员分别荣获“新中国 60 年有影响力的期刊及期刊人”称号。

[本刊讯]