

质量控制提供了基础和方法。对于一个药材需要在总体理化定性的基础上,经过性状鉴别,结合指纹图谱相似性鉴别,最终通过指标成分的量化实现对药材的综合质量评价,这样才可以在整体质量上控制好药材。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2000
- [2] 杨云,张晶,陈玉婷. 天然药物化学成分提取分离手册[M]. 修订版. 北京:中国中医药出版社, 2003
- [3] 孙菊慧,张伟,安玉明. 金钱草与广金钱草的鉴别[J]. 人参研究, 2000, 12(3): 37
- [4] 张贵君. 现代实用中药鉴别技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000

- [5] 王其新,林振洪,林海青. 广金钱草栽培品与野生品的质量比较[J]. 中草药, 2000, 31(12): 946
- [6] 陈思妮,张振秋. 广金钱草 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1249
- [7] 曹进,叶兆波,车镇涛. 广金钱草与金钱草指纹图谱比较[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(9): 1248
- [8] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [9] 王文燕,赵强,张铁军,等. 川芎药材的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1980-1983
- [10] 王文燕,赵强,张铁军,等. 决明子的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1638-1641
- [11] 王文燕,赵强,张铁军,等. 白芍的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 中草药, 2009, 40(11): 1810-1813

27 种菌种茯苓中茯苓酸分析比较研究

徐斌¹, 咎俊峰¹, 何丽珊¹, 苏玮², 王克勤², 刘焱文^{1*}

(1 湖北中医学院 中药资源与中药复方省部共建教育部重点实验室, 湖北 武汉 430061;

2 湖北省中医药研究院, 湖北 武汉 430073)

摘要:目的 建立茯苓中茯苓酸的测定方法,比较不同菌种培育的茯苓中茯苓酸的量,为评价不同菌株培育茯苓的品质提供理论依据,从而确定优良菌种,控制茯苓资源品质。方法 采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC), Kromasil 100 5 C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温 30℃,流动相为乙腈 0.2% 甲酸(80:20),体积流量 1.0 mL/min,检测波长 242 nm。结果 茯苓酸在 0.48~2.40 μg 与其色谱峰面积呈良好线性关系($r=0.9997$),平均回收率 100.26%,RSD 为 1.26%。不同菌种培育茯苓中茯苓酸的量有所差异。结论 该方法简便、专属、稳定,可用于评价不同菌种培育茯苓中茯苓酸量的研究。

关键词:茯苓;茯苓酸;高效液相色谱法

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)04-0647-03

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,寄生于松科植物赤松和马尾松的根茎,埋于土壤下 20~30 cm,通过菌株繁衍而成。茯苓收载于历年版《中国药典》,具渗湿利尿、和胃健脾、宁心安神的功效;临床主要用于治疗小便不利、水肿、脾胃气虚、食少便溏、体倦乏力及心神不宁、惊悸、失眠等症^[1]。现代药理研究表明,茯苓具有抗肿瘤、调节免疫功能、抗炎、抗过敏等方面的生物活性^[2]。茯苓为药食两用的传统中药大品种,是诸多中药方剂和中成药配伍组方的重要中药,并大量出口国外。我国是世界上唯一进行茯苓人工栽培的国家,菌种栽培已成为当前全国茯苓的主栽培模式,用于培育茯苓的菌种约有 40 余种。由于各地使用菌种混乱,加上各菌株多年交叉混用,导致茯

苓药材品质差异较大^[3]。为了规范栽培茯苓使用的菌种,保证茯苓药材的质量,本研究采用 RP-HPLC 对收集的 27 种菌培育的茯苓药材中主要有效成分茯苓酸(pachymic acid)进行了分析比较研究,筛选出栽培茯苓药材的优良菌种,并建立了简便、快速、准确可靠的定量测定方法。本项研究对于规范茯苓药材的栽培方法,控制茯苓药材的质量具有重要参考意义。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 液相色谱仪,UV-2401 紫外检测器,Agilent 色谱工作站;KQ3200DE 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);Sartorius 型电子天平(十万分之一)(德国);茯苓酸对照品为本实验室自制,经面积归一化法测定后确认其质量分数大

①收稿日期:2009-05-11

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI06A15-4-5)

作者简介:徐斌(1984—),男,湖北宜昌市人,硕士,研究方向为中药学。

Tel: 13986144585 Fax: (027) 88920834 E-mail: xubin20031cm@163.com

* 通讯作者 刘焱文

于 98% ; 茯苓药材为全国 27 种菌种培育的茯苓, 茯苓药材由各地方研究机构提供, 并经湖北省中医药研究院王克勤教授鉴定, 菌种及其来源见表 1。乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil 100-5 C₁₈ 色谱柱

(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 ℃; 流动相: 乙腈 0.2% 甲酸 (80:20); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 242 nm, 色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取茯苓酸对照品 2.40 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 0.240 mg/mL 的茯苓酸对照品溶液。

表 1 茯苓菌株与来源

Table 1 Sources of bacterial strains of *Poria*

编号	菌株名称	菌种来源	茯苓酸质量分数/ %	编号	菌株名称	菌种来源	茯苓酸质量分数/ %
1	5-78	中国科学院微生物研究所	0.299 6	15	GD	广东广州市微生物研究所	0.232 9
2	ACCC50864	中国农业微生物菌种管理保藏中心	0.252 0	16	FJ006	福建农业大学生命科学学院	0.209 4
3	ACCC50876	中国农业微生物菌种管理保藏中心	0.201 6	17	AH	安徽岳西	0.186 9
4	ACCC50478	中国农业微生物菌种管理保藏中心	0.226 7	18	S1	陕西省洋县天麻研究所	0.225 6
5	A9	安徽农大, 后经华中农大紫外诱变	0.163 4	19	T1	同仁堂 1 号(湖北英山)	0.200 2
6	SD(GD)	山东济宁光大食用菌科研中心	0.172 3	20	SD(JX)	山东金乡县真菌研究所	0.181 7
7	D8	黑龙江东北食(药)用菌研究所	0.225 5	21	JZ28	陕西省西乡县古城菌研所	0.184 7
8	SC	四川省农科院食用菌研究开发中心	0.256 9	22	F5	湖北武汉华奉食用菌研究所	0.210 8
9	ZJ	浙江云和县象山食用菌研究所	0.217 1	23	HZ	湖北华中食用菌栽培研究所	0.163 9
10	HBM C	湖北麻城县科委食用菌技术研究所	0.159 9	24	E1	华中农业大学菌种实验中心	0.146 2
11	HBSZ	湖北随州厉山镇食用菌技术研究所	0.156 0	25	901	福建三明真菌研究所	0.210 9
12	F8	湖北武汉周玉麟食用菌研究所	0.198 6	26	P0	野生, 采自大别山	0.186 4
13	protoplast9	华中农业大学真菌研究所	0.183 5	27	Y1(BS)	云南宝山县	0.179 5
14	GZ	贵州习水县酒镇食用菌研究中心	0.221 7				

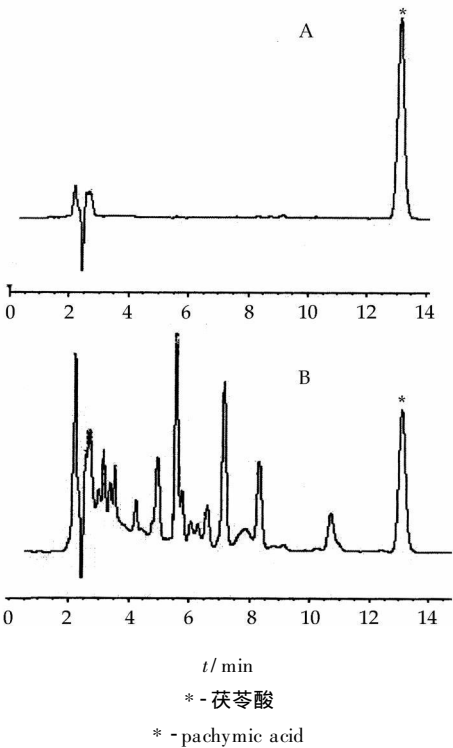


图 1 茯苓酸与茯苓药材 HPLC 图

Fig 1 HPLC Chromatograms of pachymic acid (A) and *Poria* (B)

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取不同菌种培育茯苓粉末(过 60 目筛) 0.5 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 准确加甲醇 25 mL, 加塞称定, 浸泡 25 min, 超声

60 min, 放置, 称质量, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 置于蒸发皿中, 水浴蒸干, 残留物用甲醇稀释至 2 mL 量瓶中, 即得。

2.4 线性关系的考察: 分别精密吸取茯苓酸对照品溶液 10 μL (质量浓度为 0.048、0.096、0.144、0.196、0.240 mg/mL), 注入液相色谱仪中, 测定其峰面积。以进样质量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线并进行线性回归, 得回归方程: $Y = 202.99 X - 17.185 (r = 0.999 7)$, 结果表明茯苓酸在 0.48~2.40 μg 呈良好线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一样品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定茯苓酸的峰面积计算得其 RSD 为 0.50% (n=6)。

2.6 稳定性试验: 精密吸取同一样品溶液, 分别于 0、1、2、4、8、24 h 各进样 10 μL, 测定茯苓酸的峰面积值, 计算得其 RSD 为 1.07% (n=6)。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 精密称定同一批茯苓粉末 (0.500 0±0.000 5) g, 共 6 份, 制备供试品溶液, 各精密量取 10 μL 进样, 测定茯苓酸量依次为 1.461 1、1.427 1、1.466 0、1.458 6、1.424 2、1.506 4 μg, RSD 为 2.06%。

2.8 加样回收率试验: 精密称取 9 份已知量的茯苓样品各 0.25 g, 分别加入 0.58、0.73、0.87 mg 茯苓

酸对照品各 3 份,按 2.3 项下方法制备并测定量,计算得平均回收率为 100.26%,RSD 值为 1.26% ($n=9$)。

2.9 样品测定:取不同菌种的茯苓粉末各 3 份,制备供试品溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液密封备用,分别精密吸取各供试品溶液 10 μL ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,计算样品溶液中茯苓酸的量,结果见表 1。

3 讨论

3.1 采用高效液相色谱分析技术,对我国不同地区使用的 27 种菌株培育的茯苓的主要有效成分,即茯苓酸的量进行了分析研究,建立了可靠性强的定量测定方法。《中国药典》2005 年版收载茯苓药材的质量标准中缺少定量测定项,本研究结果为完善茯

苓药材的质量标准提供了参考依据。

3.2 茯苓是通过菌种依附松木繁殖的菌类中药材,菌种对茯苓药材质量起着至关重要的作用。27 种菌种茯苓中有效成分茯苓酸的量分析比较研究表明,不同菌种培育的茯苓中茯苓酸量有较大差异,其中 ACCC50864、578 和 SC3 个菌种茯苓中茯苓酸的量明显高于其他菌种茯苓。本研究结果为规范茯苓的栽培提供了一定科学依据。

参考文献:

- [1] 杨冉,李建军,屈凌波,等.茯苓菌类的高效液相色谱指纹图谱研究[J].中草药,2004,35(3):273-275
- [2] 胡斌,杨益平,叶阳.茯苓化学成分研究[J].中草药,2006,37(5):655-658
- [3] 王克勤,方红,苏玮,等.茯苓规范化种植及产业化发展对策[J].世界科学技术——中医药现代化,2002,4(3):691

紫背金盘的生药学鉴定

易刚强,李云耀,陈晓阳,蔡俊龙,王珏

(湖南中医药大学药学院,湖南长沙 410208)

摘要:目的 对紫背金盘进行生药学鉴定,为其鉴别及应用提供科学依据。方法 采用原植物鉴别,显微鉴别,薄层鉴别的方法。结果 紫背金盘在原植物,显微,薄层等具有专属性特征。结论 通过原植物,显微,薄层能够很好地鉴别紫背金盘。

关键词:紫背金盘;原植物;生药学鉴定;显微鉴定;薄层鉴别

中图分类号:R282.21 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)04-0649-04

紫背金盘为唇形科植物紫背金盘 *Ajugae nipponensis* Makino 的全草,又名白毛夏枯草,破血丹,筋骨草,石灰菜,九味菜,散瘀草,散血丹,退血草,散血草,具有清热解毒,凉血散瘀,消肿止痛之功效,有收缩血管,降血糖、降脂和降压,抗肿瘤作用,抗炎、抑菌和抗病毒,促进创伤愈合等药理作用,该植物主要分布在我国东部、南部及西南各省,西北至秦岭南坡,此外,日本,朝鲜亦有分布^[1,2]。在我国由于紫背金盘、筋骨草 *A. ciliatae* Bunge、金疮小草 *A. decumbens* Thunb. 3 种植物近缘,均属唇形科筋骨属,统称“白毛夏枯草”的名称,都作为筋骨草使用^[3,4],据文献报道筋骨草、金疮小草均含有木犀草素活性成分,而紫背金盘未见其报道,为此笔者将木犀草素作为该植物的鉴别手段^[5,6]。本实验主要对紫背金盘性状鉴别、组织、粉末的显微鉴别以及木犀

草素薄层色谱鉴别等进行研究,为其资源研究奠定一定的基础。

1 实验部分

1.1 材料与方法

1.1.1 药材与仪器:紫背金盘由民间赤脚医生在湖南省宁乡县草地、林地及阳坡地采集,经湖南中医药大学药学院彭菲教授鉴定)。普通刀片;植物粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);数码相机(Sony);数码显微镜(SXJ-2)。

1.2 方法

1.2.1 取部分新鲜药材,按常规制片法制作切片,在显微镜下观察,成像系统成像。

1.2.2 取部分干燥药材,粉碎成粉末,制成装片,在显微镜下观察,成像系统成像。

1.2.3 将硅胶与 0.5% 的 CM-G-Na 按 3:1 的比

①收稿日期:2009-07-16

基金项目:湖南省教育厅科研项目(08C630);2009 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目

作者简介:易刚强(1965—),男,副教授。Tel: (0731) 88458227 E-mail: yigangqiang2005@yahoo.com.cn