

不同来源救必应药材的质量评价

顾利红¹, 毕福钧¹, 陈 蔼²

1. 广州市药品检验所, 广东 广州 510160

2. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510000

摘要: 目的 对收集的 22 批救必应药材进行性状、显微、HPLC 指纹图谱鉴别。方法 以粉末显微特征为主, 并采用 HPLC 法, 色谱柱为 Dikma C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 (A)-0.1%磷酸水溶液 (B) 为流动相, 进行梯度洗脱, 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长 210 nm; 柱温 35 ℃。结果 性状、粉末鉴别评价所得出的药材质量优劣结果与指纹图谱相似度评价结果相一致, 所建立的指纹图谱精密度、重复性、稳定性良好, 可反映救必应药材的整体特征。结论 所建立的性状、粉末鉴别方法可以用于救必应药材及其混淆品的鉴别, HPLC 指纹图谱可用于救必应药材的质量评价。

关键词: 救必应; 性状; 显微鉴别; 指纹图谱; HPLC

中图分类号: R286.022

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)5-0622-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.05.024

Quality evaluation of *Ilicis Rotundae Cortex* from different sources

GU Li-hong¹, BI Fu-jun¹, CHEN Ai²

1. Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China

2. College of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China

Key words: *Ilicis Rotundae Cortex*; characteristic; microscopic identification; fingerprint; HPLC

救必应 *Ilicis Rotundae Cortex* 为冬青科植物铁冬青 *Ilex rotunda* Thunb. 的干燥树皮, 具有清热解毒、凉血止血、行气止痛等功效, 为广东、广西民间常用中药, 药用部位为树皮, 包括树干皮及枝皮。该品种收载于《中国药典》2010 年版^[1], 本课题组对其质量标准进行了深入研究, 主要对收集的 22 批药材进行生药鉴定、HPLC 指纹图谱进行研究。

1 仪器与试药

Olympus BX60 显微镜、Agilent 1100 高效液相色谱仪、Agilent 1200 高效液相色谱仪和岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪。数据处理软件: 中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004 年 A 版)。

紫丁香苷对照品 (批号 111574-200201, 中国药品生物制品检定所); 长梗冬青苷、铁冬青酸、芥子醛葡萄糖苷对照品由原广州市医药工业研究所刘国樵主任药师提供, 经 HPLC 归一化法测定, 质量分数为 99.7%。救必应对照药材 (批号 1076-9901, 中国药品生物制品检定所)。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

通过野外采集、从中药材市场购买、企业提供等方式共收集 22 个样品, 均经广州市药品检验所刘柏英副主任药师鉴定, 见表 1。

2 方法与结果

2.1 性状

对收集的 22 批药材从部位、外观形状、颜色、断面质地、掺杂等方面进行评价, 结果见表 1。《广东省中药材标准》第一册^[2]“救必应”项下指出, 广东地区曾发现以冬青科植物米碎木 (青皮香) *Ilex godajam* (Colebr.) Wall. 的树皮充救必应使用的情况, 米碎木树皮的典型特征为树皮厚, 有的可达 3 cm, 断面粗糙, 米碎样或沙粒样。从 22 批药材的外观性状看, 样品 11、15 与米碎木的性状相符, 为救必应的混淆品。样品 13、16 与 17 多为小枝皮, 且掺杂有木质部碎片, 属质量较差的 3 批样品。样品 1~3、7、9、14、18~20 共 9 个样品树干皮较多, 皮厚、呈长卷筒状, 判定其质量较优。

2.2 显微鉴别

本品粉末浅棕色至棕褐色。石细胞甚多, 浅黄

收稿日期: 2012-10-13

作者简介: 顾利红 (1967—), 女, 江苏武进人, 主任中药师, 生药学硕士, 研究方向为中药检验及质量分析。

Tel: (020)26283696 13503053838 E-mail: Gulh@gzfd.gov.cn

表 1 22 批救必应药材基本情况

Table 1 General survey of 22 batches of *Ilicis Rotundae Cortex*

编号	来源	药用部位	主要外观性状
S1	湖南永州	树干皮、枝皮	呈卷筒状, 厚 1~3 mm, 内表皮黄棕色或黄褐色
S2	广东阳山	树干皮、枝皮	呈卷筒状, 厚 1~3 mm, 内表皮黄棕色
S3	广东/广州中一药业	树干皮、枝皮	呈长卷筒状, 厚约 3 mm, 内表皮黄棕色
S4	湛江药检所	枝皮多、树干皮	呈卷筒状, 厚 1~5 mm, 内表皮黄褐色或黑褐色
S5	广东韶关曲江	枝皮、树干皮	呈卷筒状, 厚 1~3 mm, 内表皮黄棕色或黑褐色
S6	广东鼎湖	枝皮	呈片状, 厚约 1 mm, 表面有少量苔藓
S7	广东翁源	枝皮、树干皮	呈长卷筒状, 厚 1~5 mm, 内表皮黄绿色或黑褐色
S8	广东连州	枝皮、皮	呈卷筒状, 厚 2~5 cm, 内表皮黄褐色
S9	福建/广州中一药业	树干皮、枝皮	呈长卷筒或碎块, 厚 1~2 mm, 内表皮黑褐色
S10	广西/广州清平药材市场	树干皮、枝皮	呈卷筒状, 厚 2~4 mm, 内表皮黑褐色
S11	广西/广州清平药材市场	枝皮、树干皮	厚 8~12 mm, 断面粗糙呈明显颗粒状
S12	广西/广州清平药材市场	枝皮、树干皮	呈卷筒状, 厚 1~8 mm
S13	广西/广州清平药材市场	碎枝皮	细碎片, 薄, 厚约 1 mm, 内表皮黄绿色或黄褐色
S14	广西灵山	树干皮、枝皮	呈长卷筒状, 厚 2~4 mm, 内表皮黄色或褐色, 掺有木部
S15	湛江嘉辉药业	枝皮、树干皮	呈短碎块, 有的略卷曲, 厚 1~20 mm, 断面粗糙呈明显颗粒状
S16	江西百草行	枝皮、树干皮	宽大, 厚约 3 mm, 内表面黄色
S17	江西赣州	碎枝皮、树干皮	呈小片状, 厚约 2 mm, 掺有木部
S18	广州星群药业	枝皮、树干皮	呈卷筒状, 厚 0.2~0.5 cm, 内表皮黑褐色
S19	广州星群药业	枝皮、树干皮	呈卷筒状, 厚 0.2~0.5 cm, 内表皮黑褐色
S20	广州星群药业	枝皮、树干皮	呈卷筒状, 厚 0.2~0.5 cm, 内表皮黑褐色
S21	韶关阳元中药饮片公司	枝皮、树干皮	呈长卷筒状, 厚 1~2 mm, 内表皮黑褐色
S22	广西博白	树干皮	长块状, 厚 8~13 mm, 内表皮黑褐色

绿色或浅黄色, 类方形、椭圆形或不规则形, 单个或成群, 长 30~80 μm , 宽 14~56 μm , 壁厚约 20 μm , 孔沟明显; 有的胞腔内含草酸钙方晶, 含方晶石细胞通常壁较薄, 方晶充塞整个胞腔。草酸钙方晶众多, 呈多面形或正方形、菱形、类双锥形, 散在或

存在于薄壁细胞中, 长 17~40 μm , 宽 7~25 μm 。有的薄壁组织中可见草酸钙簇晶, 或草酸钙簇晶及方晶共存。木栓细胞无色或浅棕色, 成群或单个散离, 表面呈多角形, 壁稍厚, 微木化, 可见细小纹孔。救必应与米碎木两者显微特征见图 1 和 2。

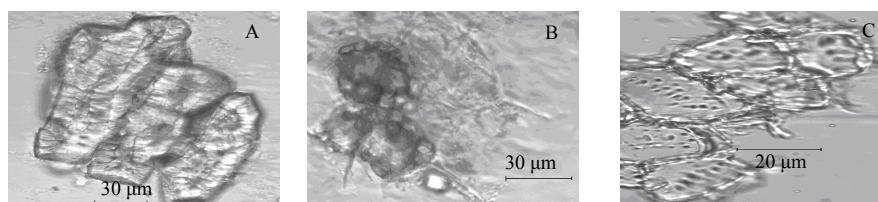


图 1 救必应石细胞 (A)、草酸钙方晶及簇晶 (B) 和木栓细胞 (C) 的粉末显微特征图

Fig. 1 Powder microscopic characteristic figures of stone cells (A), square and cluster crystal of calcium oxalate (B), and cork cells (C) in *Ilicis Rotundae Cortex*

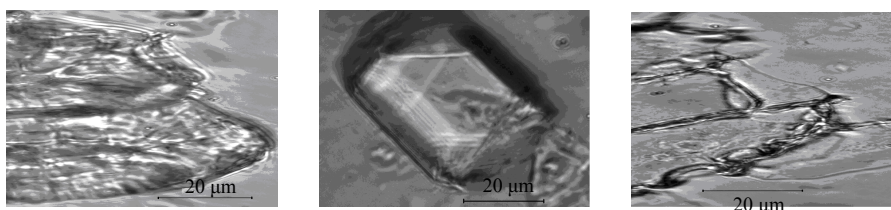


图 2 米碎木石细胞及含晶石细胞 (A)、草酸钙方晶 (B) 和木栓细胞 (C) 的粉末显微特征图

Fig. 2 Wood powder microscopic characteristic figures of stone cells (A), square crystal of calcium oxalate (B), and cork cells (C) in *I. godajam*

2.3 HPLC 指纹图谱评价

2.3.1 色谱条件与系统适应性试验 Dikma C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B) 为流动相, 梯度洗脱, 0~70 min, 10%~60% A; 70~80 min, 60% A。体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 210 nm; 柱温为 35 ℃; 理论塔板数按紫丁香苷色谱峰计算不低于 3 000。

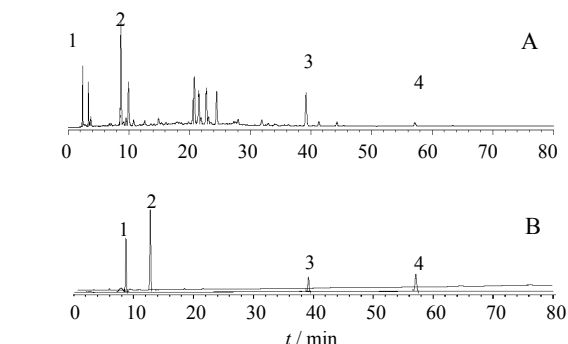
2.3.2 对照品溶液的制备 取紫丁香苷、长梗冬青苷、芥子醛葡萄糖苷、铁冬青酸对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成含紫丁香苷 0.1 mg/mL、长梗冬青苷 0.3 mg/mL、芥子醛葡萄糖苷 30 μg/mL 和铁冬青酸 0.1 mg/mL 的混合溶液, 即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 3 号筛) 约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 摇匀, 称定质量, 超声处理 30 min (功率 250 W, 频率 40 kHz), 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.4 检测波长的选择 考虑到救必应药材中含有黄酮、酚类、木脂素和皂苷等化合物成分, 制备供试品溶液进样分析, 经二极管阵列检测器检测, 得到各主要色谱峰的全波长扫描图, 综合各色谱峰的分析结果, 表明以 210 nm 为检测波长检测的色谱峰较多, 且色谱峰的分离度、峰形等均较好, 因此, 选择 210 nm 作为检测波长。

2.3.5 专属性试验 精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 见图 3。

2.3.6 稳定性试验 取样品(S2) 的供试品溶液, 在室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 后分别进样,



1-紫丁香苷 2-芥子醛葡萄糖苷 3-长梗冬青苷 4-铁冬青酸
1-syringin 2-sinapaldehyde glucoside 3-pedunculoside 4-rotundic acid

图3 供试品(A) 和对照品(B) 的HPLC 色谱图

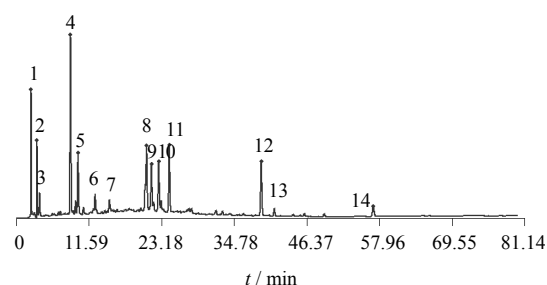
Fig. 3 HPLC chromatograms of samples (A) and reference substances (B)

依法测定, 将所得色谱图 AIA 格式数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A 版) 进行相似度计算(以中位数建立参照特征图谱), 结果显示, 样品在 24 h 内稳定性的相似度均大于 0.999, 说明样品在 24 h 内稳定。

2.3.7 精密度试验 取样品(S2) 的供试品溶液连续进样 6 次, 进行相似度计算, 结果 6 次试验色谱图的相似度均大于 0.99, 说明仪器的精密度良好。

2.3.8 重复性试验 取样品(S2) 0.1 g, 共 6 份, 按“2.3.3”项下制得供试品溶液, 依法测定, 进行相似度计算。结果显示, 6 份供试液的色谱图相似度均大于 0.999, 说明测定方法的重复性良好。

2.3.9 HPLC 特征图谱的建立及相似度评价 取收集的样品 22 批, 按“2.3.3”项下制得供试品溶液, 依法测定, 记录色谱图, 得到各批药材 HPLC 特征图谱。结合救必应药材的性状、显微鉴别及紫丁香苷和长梗冬青苷测定的结果^[3], 选择 18 批药材的 HPLC 色谱特征图谱, 建立共有模式(图 4)。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A 版) 计算各样品与共有模式的相似度, 见图 5 和表 2。



4-紫丁香苷 6-芥子醛葡萄糖苷 12-长梗冬青苷 14-铁冬青酸
4-syringin 6-sinapaldehyde glucoside 12-pedunculoside 14-rotundic acid

图4 救必应药材对照特征图谱

Fig. 4 Reference characteristic chromatogram of *Illicis Rotundae Cortex*

3 讨论

实验中取样品分别精密加入甲醇、乙醇、水和 50% 甲醇, 其余操作按“2.3.3”项下制得供试品溶液, 依法测定, 结果显示采用 50% 甲醇作为提取溶剂效果最好。

实验中分别采用超声提取 30 min、加热回流提取 2 h 和索氏回流提取 5 h 的方法, 其余操作按“2.3.3”项下制得供试品溶液, 依法测定, 结果显示 3 种方法的效果差异极小, 故采用较为简便的超声提取方法。

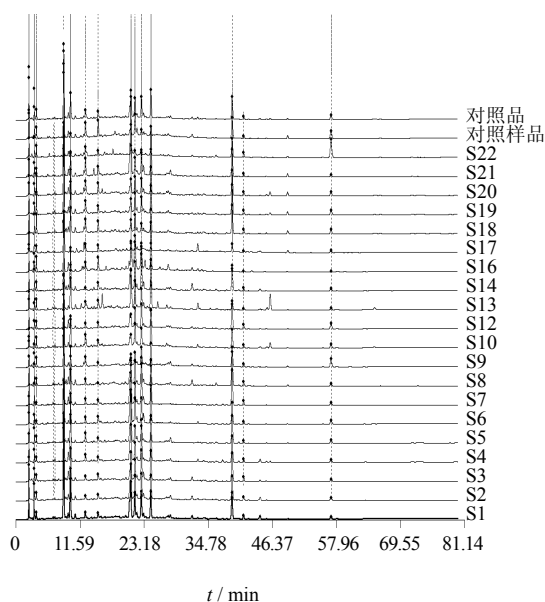


图 5 样品与共有模式比较 HPLC 色谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms of samples and common mode

在测定的 23 批药材（包括救必应对照药材 1 批）中，相似度在 0.90 以上的有 16 批，占 69.5%。样品 1~3、18~20、7、9、14 共 9 个救必应药材树干皮较多，皮厚、呈长卷筒状，从性状上判定为质量较优，其相似度也均在 0.964 以上。

不同产地的救必应药材之间某些化学成分在组成或量上存在差异。样品 11 和样品 15 两批救必应药材经性状、粉末鉴别为米碎木，此类药材的 HPLC 色谱图中几乎没有检测出色谱峰，与其他样品有明显的区别。样品 13、16、17 从性状上看，多为碎小

表 2 22 批样品与共有模式的相似度

Table 2 Similarity between 22 batches of samples and common mode

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.984	S12	0.958
S2	0.979	S13	0.731
S3	0.970	S14	0.964
S4	0.938	S15	—
S5	0.925	S16	0.754
S6	0.909	S17	0.746
S7	0.979	S18	0.970
S8	0.937	S19	0.984
S9	0.968	S20	0.972
S10	0.972	S21	0.870
S11	—	S22	0.834
对照	0.913		

“—”代表供试品色谱峰严重缺失，无法计算相似度

“—” means significant lack of characteristic chromatograms, which could not calculate similarity

的枝皮，且掺杂有部分木质部，经鉴别，其质量较差，结果相似度结果也均为 0.76 以下。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准 (第 1 册) [M]. 广州: 广东科技出版社, 2004.
- [3] 毕福钧, 钟顺好, 陈 嵩, 等. HPLC 法同时测定救必应药材中紫丁香苷和长梗冬青苷 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1386-1388.