

# 蒙药大梔子超微饮片的质量标准研究<sup>△</sup>

白万富<sup>1\*</sup>, 鞠爱华<sup>2#</sup>, 张静<sup>2</sup>, 蔡丽娟<sup>2</sup>, 庄志鹤<sup>2</sup> (1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古包头 014040; 2. 内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010059)

中图分类号 R282.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)33-4689-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.33.27

**摘要** 目的: 建立蒙药大梔子超微饮片的质量标准。方法: 观察超微饮片的显微鉴别特征; 采用薄层色谱法(TLC)对超微饮片进行定性鉴别; 检测超微饮片水分、灰分、浸出物量; 采用高效液相色谱法测定超微饮片中梔子苷的含量; 色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-水(15:85, V/V), 流速为1.0 ml/min, 检测波长为238 nm, 柱温为30 ℃, 进样量为10 μl。结果: 超微饮片细胞已完全破壁, 粒径为5~60 μm。超微饮片TLC斑点清晰, 分离良好。超微饮片水分3.89%~5.55%, 灰分为3.13%~5.22%, 酸不溶性灰分为0.16%~0.80%, 浸出物为29.2%~43.4%。梔子苷检测质量浓度线性范围为1.56~7.82 μg/ml( $r=0.9999$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%; 加样回收率为100.17%~102.04%(RSD=1.07%,  $n=6$ )。结论: 该研究所建标准可用于蒙药大梔子超微饮片的质量控制。

**关键词** 蒙药大梔子; 超微饮片; 梔子苷; 质量标准

## Study on the Quality Standard of Ultramicro Decoction Piece of Meng Medicine *Gardenia jasminoides*

BAI Wanfu<sup>1</sup>, JU Aihua<sup>2</sup>, ZHANG Jing<sup>2</sup>, CAI Lijuan<sup>2</sup>, ZHUANG Zhihe<sup>2</sup> (1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science & Technology, Inner Mongolia Baotou 014040, China; 2. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard of ultramicro decoction piece of Meng medicine *Gardenia jasminoides*. METHODS: Microscopic identification character of the ultramicro decoction piece was observed; TLC was adopted for its qualitative identification; moisture, ash, extract were detected; HPLC was used for the content determination of geniposide: the column was Kromasil C<sub>18</sub> with mobile phase of acetonitrile-water (15:85, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 238 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 10 μl. RESULTS: Cell wall was completely broken and the particle sizes were 5-60 μm. TLC spots were clear and well separated. The moisture was 3.89%-5.55%, ash was 3.13%-5.22%, acid-insoluble ash was 0.16%-0.80%, and extract was 29.2%-43.4%. The linear range of geniposide was 1.56-7.82 μg/ml ( $r=0.9999$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recovery was 100.17%-102.04% (RSD=1.07%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The standard can be used for the quality control of ultramicro decoction piece of Meng medicine *G. jasminoides*.

**KEYWORDS** *Gardenia jasminoides*; Ultramicro decoction piece; Geniposide; Quality standard

大梔子为茜草科植物长果梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis f. *Longicarpa* Z. W. Xie et M. Okada 的干燥成熟果实。为蒙医专用特色药材, 蒙药名为“朱如拉”, 收载于1998年版《中华人民共和国药典标准》蒙药分册<sup>[1]</sup>。该药具有清血热、明目、祛“巴达干协日”、生津、调元的功效, 蒙医临床用于血热、肝热、黄疸、急性结膜炎、肾热、膀胱热、血热头痛、口渴等证的治疗。

大梔子主要含有梔子苷等环烯醚萜类成分, 故本课题组在前期对蒙药大梔子超微饮片系统规范研究的基础上, 为了控制其内在质量, 对其性状、显微、薄层色谱(TLC)、含量测定及各项检查方面进行了深入研究, 为建立科学、合理的质量标准提供参考。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

SLC-10AVP型高效液相色谱(HPLC)仪, 包括紫外可见检测器、CLASS-VP色谱工作站(日本Shimadzu公司); BFM-6A

型翻滚式倍力粉碎机(济南倍力粉碎技术工程有限公司); AL204型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 3001型干粉激光粒度测定仪、激光粒度分析专家系统(济南微纳仪器有限公司); KQ-250D型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率: 400 W, 频率: 40 kHz)。

#### 1.2 试剂

梔子苷对照品(批号: 110749-200714, 纯度>98%)、大梔子对照药材(批号: 120907-201111)均购自中国食品药品检定研究院; 硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂); 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

#### 1.3 药材

大梔子药材采集于广西等地及市售(见表1), 均经内蒙古医科大学药学院鞠爱华教授鉴定为真品。超微饮片为笔者自制, 粒径为5~60 μm。

### 2 方法与结果

#### 2.1 性状鉴别

大梔子超微饮片为黄红色极细微粉, 质地细腻而柔滑, 气微, 味酸而苦。

#### 2.2 显微形貌特征

取粉末少许, 置载玻片上, 滴加蒸馏水少许, 加盖玻片, 置

△ 基金项目: 国家科技支撑计划课题(No.2012BAI28B01)

\* 讲师, 博士。研究方向: 中蒙药质量标准及有效成分分析。电话: 0472-7167795。E-mail: bwf007007@sina.com

# 通信作者: 教授。研究方向: 生药学。电话: 0471-6653132。E-mail: hhhntmyxyjih5511@sina.com

表1 大梔子药材来源  
Tab 1 Origin of *G. jasminoides*

批号	产地
1	江西南昌湿地公园
2	广西南宁植物园
3	市售品(产地贵州)
4	市售品(产地四川)
5	市售品(产地四川)
6	市售品(产地江西)
7	市售品(产地湖北)
8	市售品(产地四川)
9	市售品(产地贵州)
10	市售品(产地湖南)

显微镜下观察,可见超微饮片细胞已完全破壁,失去大梔子粉末的原有显微形貌,为细小均匀的颗粒状,粒径为5~60 μm,极少数为75 μm;大梔子原粉可见各种薄壁组织、厚壁组织的碎断片,或完整的石细胞、纤维等聚集成群或散在,大小悬殊,粒径为40~380 μm<sup>[2-4]</sup>,详见图1。

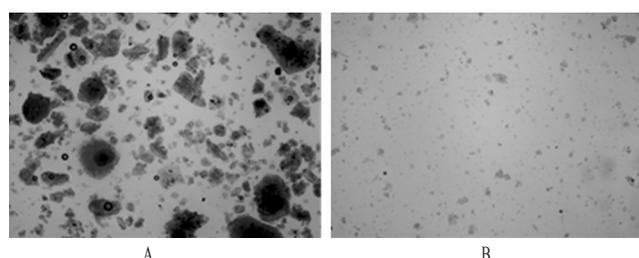


图1 大梔子原粉与超微饮片显微特征图(100×)

A.原粉;B.超微饮片

Fig 1 Microscopic characters of *G. jasminoides* raw powder and ultramicro decoction piece (100×)

A. raw powder; B. ultramicro decoction piece

### 2.3 TLC鉴别

取本品粉末1.0 g,加甲醇10 ml,超声处理30 min,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取梔子苷对照品,加甲醇制成质量浓度为2 mg/ml的对照品溶液。再取大梔子对照药材1.0 g,研细,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(四部)]<sup>[9]</sup>试验,吸取上述对照品溶液4 μl,供试品溶液和对照药材溶液各2 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于110 ℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图2。

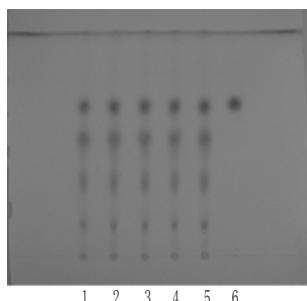


图2 薄层色谱图

1~4.供试品;5.对照药材;6.对照品

Fig 2 TLC chromatograms

1-4. test samples; 5. control medicinal herb; 6. reference substance

### 2.4 水分检查

按2015年版《中国药典》(四部)水分测定法<sup>[5]</sup>项下方法检测样品水分。结果,10批样品水分在3.89%~5.55%范围内(见表2),故拟定大梔子超微饮片水分含量不得过6.0%。

### 2.5 总灰分检查

按2015年版《中国药典》(四部)灰分测定法<sup>[5]</sup>项下方法检测样品总灰分。结果,10批样品总灰分在3.13%~5.22%范围内(见表2),故拟定大梔子超微饮片总灰分含量不得过5.5%。

### 2.6 酸不溶性灰分检查

按2015年版《中国药典》(四部)灰分测定法<sup>[5]</sup>项下方法检测样品酸不溶性灰分。结果,10批样品酸不溶性灰分在0.16%~0.80%范围内(见表2),故拟定大梔子超微饮片酸不溶性灰分含量不得过1.0%。

### 2.7 浸出物检查

按2015年版《中国药典》(四部)热浸法<sup>[5]</sup>项下方法检测样品浸出物量。结果,10批样品浸出物量在29.2%~43.4%范围内(见表2),故拟定大梔子超微饮片浸出物量不得低于28.0%。

表2 大梔子超微饮片各项目检测结果(n=2)

Tab 2 Determination results of *G. jasminoides* ultramicro decoction piece (n=2)

批号	产地	水分, %	总灰分, %	酸不溶性灰分, %	浸出物, %	梔子苷含量, %
1	江西南昌湿地公园	4.05	3.68	0.27	40.2	3.5
2	广西南宁植物园	3.99	4.59	0.18	31.7	3.6
3	市售品(产地贵州)	5.55	3.13	0.80	29.2	6.1
4	市售品(产地四川)	4.44	3.74	0.16	31.8	6.2
5	市售品(产地四川)	4.67	5.22	0.23	34.7	6.4
6	市售品(产地江西)	3.89	5.17	0.24	30.4	3.2
7	市售品(产地湖北)	4.72	4.32	0.49	29.2	6.1
8	市售品(产地四川)	5.34	5.03	0.63	32.5	6.2
9	市售品(产地贵州)	5.15	4.62	0.55	43.4	4.6
10	市售品(产地湖南)	5.37	4.10	0.23	40.7	5.3

### 2.8 含量测定<sup>[6-11]</sup>

2.8.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);乙腈-水(15:85, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:238 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,理论板数以梔子苷峰计≥1 500,各成分基线分离良好,分离度>1.5,详见图3。

2.8.2 对照品溶液的制备 取梔子苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成梔子苷质量浓度为6 μg/ml的对照品溶液。

2.8.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过4号筛)约0.1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加甲醇25 ml,称定质量,超声处理20 min,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减少的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液2 ml,置于50 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

2.8.4 线性关系考察 取梔子苷对照品11.5 mg,精密称定,置于25 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀(梔子苷质量浓度为460.00 μg/ml);精密量取上述溶液1.7 ml,置于25 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得梔子苷对照品溶液(梔子苷质量浓度为31.28 μg/ml)。分别精密量取上述梔子苷对照品溶液0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml,分别置于10 ml量瓶中,加甲醇定容,制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.8.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以梔子苷质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得梔子苷回归方程为 $y=3.173 9 \times 10^4 x + 6 675.4$  ( $r=0.999 9$ )。结果表明,梔子苷检测质量浓度线性范围为1.56~7.82 μg/ml。

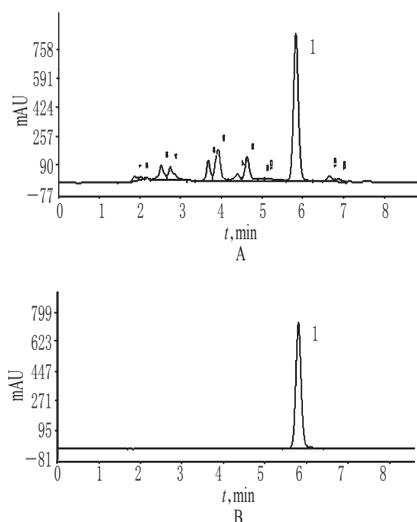


图3 高效液相色谱图

A. 供试品; B. 对照品; 1. 栀子苷

Fig 3 HPLC chromatograms

A. test sample; B. reference substance; 1. geniposide

2.8.5 精密度试验 取“2.8.2”项下对照品溶液适量,按“2.9.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,栀子苷峰面积的RSD=0.74% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.8.6 稳定性试验 取“2.8.3”项下供试品溶液(批号:1)适量,分别于室温下放置0、4、8、12、16、20、24 h时按“2.8.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,栀子苷峰面积的RSD=1.23% (n=7),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.8.7 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:1)适量,按“2.8.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.8.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量。结果,栀子苷平均含量为5.28%, RSD=0.95% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.8.8 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:1)适量,共6份,分别加入一定质量的栀子苷对照品,按“2.8.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.8.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests (n=6)

取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.049 8	2.633	1.104	3.760	102.04		
0.050 4	2.665	1.104	3.771	100.17		
0.049 7	2.628	1.104	3.735	100.26	101.05	1.07
0.049 9	2.639	1.104	3.744	102.04		
0.050 6	2.676	1.104	3.809	100.17		
0.050 1	2.649	1.104	3.765	100.26		

2.8.9 样品含量测定 取10批样品各适量,分别按“2.8.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.8.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。结果,不同产地大栀子超微饮片中栀子苷含量差异较大,根据10批样品测定结果,考虑到各地药材质量差异,故规定栀子苷含量不得低于2.8%。

### 3 讨论

#### 3.1 TLC鉴别的选择

TLC鉴别试验中,笔者选择了大栀子药材及大栀子特征性成分栀子苷作为对照<sup>[12]</sup>。通过比较研究,建立了TLC鉴别系统。笔者在预试验中选用0.5%羧甲基纤维素钠溶液制备的硅胶G薄层板,并比较了14个不同展开系统:(1)乙酸乙酯-甲醇-水

(6:1:0.1, V/V); (2)乙酸乙酯-甲酸-水(6:0.5:0.1, V/V/V); (3)三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(3:3:0.5, V/V/V); (4)三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(3:3:1:0.1, V/V/V/V); (5)三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸-水(3:3:1:0.1, V/V/V/V); (6)三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(1:3:0.5, V/V/V); (7)三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(1:3:1, V/V/V); (8)乙酸乙酯-甲酸-水(4:1:0.1, V/V/V); (9)乙酸乙酯-甲酸(4:1, V/V); (10)乙酸乙酯-丙酮-甲酸(5:5:1, V/V/V); (11)三氯甲烷-甲醇(3:1, V/V),展距8 cm; (12)三氯甲烷-甲醇(3:1, V/V),展距15 cm; (13)三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸-水(3:3:2:0.1, V/V/V/V); (14)乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1, V/V/V/V),显色剂为10%硫酸乙醇,于110℃加热至斑点显色清晰。结果表明,以第14个系统为展开系统时的效果最为理想,分离度良好,斑点清晰,重复性好。

此外,笔者考察了不同温度(-5、25℃)、不同湿度(25%、75%)以及不同型号的薄层板对TLC鉴别的影响,结果表明以上条件对试验均无显著影响。

#### 3.2 检测波长的选择

文献<sup>[12]</sup>和2015年版《中国药典》(一部)<sup>[6]</sup>中有关栀子苷的测定波长均为238 nm,经在200~700 nm波长范围内进行光谱扫描,证明对照品及供试品均在238 nm波长处有最大吸收。故本试验选择238 nm为检测波长,既可保证样品测定,又可排除其他组分的干扰。

综上所述,本研究所建标准可用于蒙药大栀子超微饮片的质量控制。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药品标准: 蒙药分册[S]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1998: 2.
- [2] 王爱武, 吕文海, 耿晖. 超微饮片碎在中药生产中应用概况及展望[J]. 时珍国医国药, 2000, 7(11): 669.
- [3] 谢瑞红, 王顺喜, 谢建新, 等. 超微粉碎技术的应用现状与发展趋势[J]. 中国粉体技术, 2009, 15(3): 64.
- [4] 李守信, 邱新建, 贺凤成, 等. 红参超微粉的质量标准研究[J]. 中国药房, 2014, 25(3): 256.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57、103、204、418.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 248.
- [7] 王恩力, 董方, 姚景春. 栀子苷药理学和毒理学研究进展[J]. 中国药房, 2015, 26(19): 2 730.
- [8] 朱继孝, 李磊, 朱玉野, 等. HPLC-DAD法同时测定复方栀子柏皮汤中8种有效成分的含量[J]. 中药材, 2014, 37(1): 147.
- [9] 王钢力, 赵淑杰, 陈德昌. 大黄栀子果实化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(1): 38.
- [10] 鞠爱华, 周凯, 张静, 等. 蒙药大栀子普通粉与超微饮片高效液相色谱指纹图谱的比较[J]. 中药材, 2013, 36(7): 1 072.
- [11] 关金凤, 于淑华, 刘玉琴. 反相高效液相色谱法测定蒙药大栀子中栀子苷的含量[J]. 中国民族民间医药杂志, 2001, 53(4): 355.
- [12] 包晓华, 赵贤芳, 王秀兰, 等. 蒙药洁妇康洗剂的薄层色谱鉴别研究[J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2014, 29(5): 582.

(收稿日期: 2015-12-07 修回日期: 2016-01-31)

(编辑: 张 静)