

各成分含有量差异较大,以京尼平苷酸最明显,其原因可能是不同批次原料药的差异所致,故生产厂家应对此加以关注。

参考文献:

[1] 成 军,白焱晶,赵玉英,等. 杜仲叶苯丙素类成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(1): 38-40.

[2] 张忠立,左月明,李于益,等. 杜仲叶苯丙素类化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(3): 421-423.

[3] 左月明,张忠立,王彦彦,等. 杜仲叶环烯醚萜类化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(2): 252-254.

[4] 成 军,赵玉英,崔育新,等. 杜仲叶黄酮类化合物的研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 284-286.

[5] 李 旭,刘 停,陈时建,等. 杜仲叶绿原酸提取工艺优化及对自发性高血压大鼠的降压作用[J]. 食品科学, 2013, 34(14): 30-34.

[6] 赵 昱,赵 军,李湘潭,等. 咖啡酰奎尼酸类化合物研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(11): 869-874.

[7] 王 峰,刘 敏,杨连春,等. 咖啡酸 阿魏酸对高血压大鼠的降压作用[J]. 解放军药学报, 1999, 15(5): 1-4.

[8] Deyama T, Nishibe S, Nakazawa Y. Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and *Siberian ginseng* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(12): 1057-1070.

[9] 刘 静,濮智颖,李爱玲,等. 杜仲叶黄酮降血脂及抗氧化作用的研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5631-5632.

[10] Nishida S, Satoh H. Comparative vasodilating actions among terpenoids and flavonoids contained in *Ginkgo biloba* extract [J]. *Clin Chim Acta*, 2004, 339(1-2): 129-133.

[11] WS₃-B-2143-96-1. 杜仲平压片质量标准[S].

[12] WS-10224 (ZD-0244) -2002-2012Z. 杜仲平压片质量标准[S].

[13] 马凤仙,赫锦锦,李 钦. RP-HPLC 测定杜仲平压片中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 86-89.

[14] 童黄锦,杨海军,曾庆琪,等. HPLC 法同时测定炒牛蒡子饮片 7 个活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(5): 771-775.

[15] 林雀跃,罗永强,张荣林,等. HPLC 法同时测定壮药玉叶金花中 9 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(5): 765-770.

炒车前子质量标准的研究

赫一鸣, 刘 鑫, 王玥玥, 曹 雪, 贡济宇*, 蔡广知*
(长春中医药大学, 吉林 长春 130117)

摘要: **目的** 建立炒车前子 *Plantaginis Semen Tostum* 的质量标准。**方法** TLC 法进行定性鉴别,药典法测定水分、总灰分、酸不溶性灰分含有量及膨胀度, HPLC 法测定京尼平苷酸、毛蕊花糖苷含有量。**结果** TLC 斑点清晰,阴性无干扰。水分、总灰分、酸不溶性灰分平均含有量分别为 0.026 6%、4.3%、0.43%, 平均膨胀度为 4.9。京尼平苷酸、毛蕊花糖苷分别在 0.793 75~25.400 μg ($r=0.999\ 3$)、0.812 5~26.00 μg ($r=0.999\ 5$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 99.5%、99.8%, RSD 分别为 1.2%、2.5%。**结论** 暂定炒车前子水分、总灰分、酸不溶性灰分含有量分别不超过 0.032%、5.2%、0.52%, 膨胀度及京尼平苷酸、毛蕊花糖含有量分别不少于 3.9、0.90%、0.55%。

关键词: 炒车前子; 京尼平苷酸; 毛蕊花糖苷; TLC; 药典法; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)01-0044-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.011

Quality evaluation for *Plantaginis Semen Tostum*

HE Yi-ming, LIU Xin, WANG Yue-yue, CAO Xue, GONG Ji-yu*, CAI Guang-zhi*

收稿日期: 2019-05-29

基金项目: 吉林省特色药材炮制规范项目 (PZ-2016-14)

作者简介: 赫一鸣 (1994—), 女, 硕士生, 从事中药分析学研究。Tel: 13069247420, E-mail: 1372221031@qq.com

* 通信作者: 贡济宇 (1960—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药分析学及药物分析学、中药活性成分分析研究。Tel: 13944826815, E-mail: gongjiyu@126.com

蔡广知 (1977—), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事中药资源开发、中药活性物质分析研究。Tel: 19990570373, E-mail: 80188429@qq.com

(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT: AIM To establish the quality standard for *Plantaginis Semen Tostum*. **METHODS** TLC was used for qualitative identification, pharmacopeia method was applied to determining water, total ash, acid-insoluble ash contents and turgidity, and HPLC was adopted in the content determination of geniposidic acid and verbascoside. **RESULTS** The TLC plots were clear without negative interference. The average contents of water, total ash and acid-insoluble ash were 0.026 6%, 4.3% and 0.43%, respectively, along with the average turgidity of 4.9. Geniposidic acid and verbascoside showed good linear relationships within the ranges of 0.793 75–25.400 μg ($r=0.999\ 3$) and 0.812 5–26.00 μg ($r=0.999\ 5$), whose average recoveries were 99.5% and 99.8% with the RSDs of 1.2% and 2.5%, respectively. **CONCLUSION** In *Plantaginis Semen Tostum*, it is temporarily determined that the contents of water, total ash and acid-insoluble ash are not more than 0.032%, 5.2% and 0.52%, turgidity and contents of geniposidic acid, verbascoside are not less than 3.9, 0.90% and 0.55%, respectively. **KEY WORDS:** *Plantaginis Semen Tostum*; geniposidic acid; verbascoside; TLC; pharmacopeia method; HPLC

车前子为车前科植物车前 *Plantago asiatica* L. 或平车前 *Plantago depressa* Willd. 的干燥成熟种子^[1], 始载于《神农本草经》^[2], 其味甘, 具有清热利尿通淋、渗湿止渴、明目、祛痰的功效, 用于热淋湿痛、水肿胀满、暑湿泄泻、目赤肿痛、痰热咳嗽等症的治疗^[3-4]。炒车前子为车前子清炒后的炮制品, 对便秘具有良好疗效^[5], 并可增强生品清热利尿、肾湿通淋的作用^[6]。

2015 年版《中国药典》一部收载了肾炎解热片、八正合剂、金花明目丸、除湿白带丸、益肾灵颗粒等含有炒车前子的中成药, 广东、河南、上海等地在炮制规范中以车前子为炒车前子质控指标, 不能体现该药材炒制前后各项指标的变化。因此, 本实验参考药典及相关文献, 采用 TLC、HPLC 法分别对炒车前子中主要活性成分京尼平苷酸和毛蕊花糖苷进行定性鉴别、定量分析, 从性状、鉴别、检查方面进行系统研究^[7], 以期更好地控制该药材质量, 保证临床疗效^[8]。

1 材料

DGG-9030 电热恒温鼓风干燥箱 (上海森信实验仪器有限公司); 电子天平 (万分之一、十万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司); HH-S₂₄ 数显恒温水浴锅 (金坛市荣华仪器制造有限公司); LC-2030 高效液相色谱仪 (日本岛津公司)。京尼平苷酸 (批号 111828-201604)、毛蕊花糖苷 (批号 111530-201713) 对照品购于中国食品药品检定研究院。10 批车前子购于宏检大药房等地, 经长春中医药大学药学院中药资源与鉴定教研组蔡广知副教授鉴定为正品, 具体见表 1。甲醇为色谱纯 (美国 Fisher 公司; 水为屈臣氏蒸馏水 (广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

编号	来源	产地	批号
1	宏检大药房	江西	160701
2	广东联丰中药饮片有限公司	广东	170204
3	大别山珍药业	安徽	180104
4	安国药源商贸有限公司	河北	180702
5	康美药业股份有限公司	江西	170905
6	养生堂股份有限公司	云南	180320
7	普宁市泽群中药饮片有限公司	江西	180504
8	亳州市问善堂药业科技有限公司	江西	170602
9	河北美威药业股份有限公司	河北	170402
10	安徽孚众药业有限公司	安徽	180921

2 方法与结果

2.1 炒制品制备^[9] 取适量净药材于炒制容器中, 用文火炒至略有爆声、有香气溢出时取出, 晾凉, 即得。

2.2 性状特征 本品呈椭圆形、不规则长圆形或三角状长圆形, 略扁^[7]; 一面有灰白色凹点状种脐, 长 (2±0.5) mm, 宽 (1±0.3) mm, 表面有细皱纹, 显黄棕色至黑褐色^[1]; 质硬, 气焦香。

2.3 TLC 定性鉴别

2.3.1 对照品溶液制备 精密称取毛蕊花糖苷、京尼平苷酸对照品各 1 mg, 甲醇制成 1 mg/mL, 即得^[1]。

2.3.2 供试品溶液制备 取本品粗粉 1 g, 10 mL 甲醇超声 30 min, 滤过, 蒸干, 残渣加 2 mL 甲醇溶解, 即得^[1]。

2.3.3 鉴别方法 采用 2015 年版《中国药典》薄层色谱法 (通则 0502)。吸取对照品、供试品溶液各 5 μL, 点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水 (18 : 2 : 1.5 : 1) 为展开剂, 置于 254 nm 紫外灯下观察, 发现供试品色谱在对

照品相应位置上显相同颜色斑点^[1]；以 0.5% 香草醛硫酸溶液为显色剂，105 ℃ 下加热至斑点清晰可见，也发现上述情况^[9-10]。见图 1。

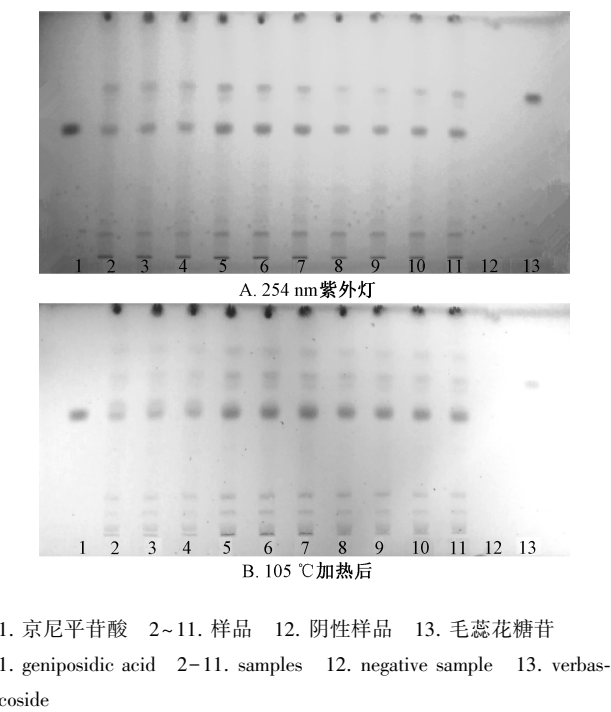


图 1 炒车前子 TLC 色谱图

Fig.1 TLC chromatograms of *Plantaginis Semen Tostum*

2.4 检查

2.4.1 水分、总灰分、酸不溶性灰分 采用 2015 年版《中国药典》四部方法测定^[11]，结果见表 2。

表 2 水分、总灰分、酸不溶性灰分、膨胀度测定结果 (n=3)

Tab.2 Results of content determination of water, total ash, acid-insoluble ash and turgidity (n=3)

编号	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	膨胀度
1	0.026 5	4.2	0.44	5.1
2	0.026 8	4.4	0.43	5.2
3	0.026 7	4.5	0.45	5.1
4	0.026 6	4.6	0.43	5.0
5	0.026 7	4.4	0.44	5.0
6	0.026 5	4.0	0.42	4.6
7	0.026 6	4.5	0.43	4.6
8	0.026 7	4.3	0.46	5.1
9	0.026 7	4.3	0.45	4.5
10	0.026 5	4.0	0.40	4.6
平均值	0.026 6	4.3	0.43	4.9

2.4.2 膨胀度 称取本品 1 g，采用 2015 年版《中国药典》膨胀度测定法（通则 2101）测定^[1]，结果见表 2。以水分、总灰分、酸不溶性灰分平均含有量的 120%，膨胀度的 80% 制定限度，暂定前

三者分别不超过 0.032%、5.2%、0.52%，后者不低于 3.9^[12]。

2.5 含有量测定

2.5.1 对照品溶液制备^[1] 精密称取毛蕊花糖苷、京尼平苷酸对照品适量，置于棕色量瓶中，60% 甲醇制成 1 mg/mL，即得。

2.5.2 供试品溶液制备^[1] 取本品粉末（过 2 号筛）约 1 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，加入 60% 甲醇 50 mL，称定质量，加热回流 2 h 后放冷，60% 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.5.3 色谱条件^[1] Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，2.5 μm）；流动相甲醇（A）- [醋酸-水（0.5：100）]（B），梯度洗脱（0~1 min，5% A；1~40 min，5%~60% A；40~50 min，60%~5% A）；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 254 nm；进样量 10 μL，色谱图见图 2。由此可知，色谱峰分离度良好，阴性无干扰，理论塔板数按京尼平苷酸峰计不低于 3 000。

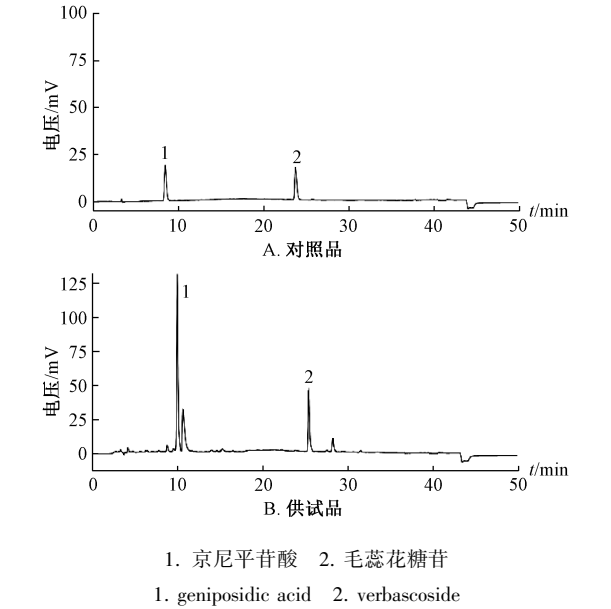


图 2 各成分 HPLC 色谱图

Fig.2 HPLC charomatograms of various constituents

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察^[13] 分别精密吸取含 0.016、0.032、0.063、0.127、0.254、0.508 mg/mL 京尼平苷酸，0.016、0.032、0.065、0.130、0.260、0.520 mg/mL 毛蕊花糖苷的对照品溶液，在“2.5.3”项色谱条件下进样测定。以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得京尼平苷酸、毛蕊花糖苷方程分别为 $Y =$

6 891 949.924X-15 839.402 99 ($r=0.999\ 3$)、 $Y=6\ 621\ 703.133X-28\ 736.930\ 35$ ($r=0.999\ 5$), 分别在 0.793 75~25.400、0.812 5~26.00 μg 范围内线性关系良好。

2.6.2 精密度试验^[14-15] 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 在“2.5.3”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得供试品溶液峰面积 RSD 为 1.6%, 表明仪器精密度良好^[15]。

2.6.3 稳定性试验^[16] 精密吸取同一对照品、供试品溶液各 10 μL , 于 0、2、4、6、8、10、12 h 在“2.5.3”项色谱条件下进样测定, 测得对照品、供试品溶液峰面积 RSD 分别为 2.8%、2.1%, 表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.6.4 重复性试验 取同一批本品(批号 180921), 按“2.5.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 在“2.5.3”项色谱条件下进样测定, 测得京尼平苷酸、毛蕊花糖苷含有量 RSD 分别为 0.24%、0.28%, 表明该方法重复性良好。

2.6.5 加样回收率试验 精密称取含有量已知的本品 6 份, 精密加入适量对照品, 按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5.3”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 京尼平苷酸、毛蕊花糖苷平均加样回收率分别为 99.5%、99.8%, RSD 分别为 1.2%、2.5%。

2.7 样品含有量测定 按“2.5.2”项下方法制备供试品(炒制前、炒制后)溶液, 在“2.5.3”项色谱条件下进样测定, 计算含有量, 结果见表 3。根据测定结果, 结合 2015 年版《中国药典》相关规定, 暂定京尼平苷酸、毛蕊花糖苷含有量分别不少于 0.90%、0.55%。

表 3 各成分含有量测定结果

Tab. 3 Results of content determination of various constituents

编号	炒制前京尼平苷酸/%	炒制后京尼平苷酸/%	炒制前毛蕊花糖苷/%	炒制后毛蕊花糖苷/%
1	0.74	1.00	1.34	1.85
2	0.60	1.05	1.18	2.55
3	0.68	1.09	1.14	1.99
4	0.74	0.97	1.41	1.83
5	0.61	0.92	1.36	2.64
6	0.71	1.13	1.29	2.83
7	0.80	1.06	1.49	2.55
8	0.63	1.07	1.24	2.24
9	0.71	1.15	1.26	1.88
10	0.65	0.95	1.20	2.01

3 讨论

车前子炒制后, 京尼平苷酸含有量较生品升高 35%, 而毛蕊花糖苷升高 38%, 可能是炒制会破坏药材中大量黏液质, 使有效成分易煎出^[17], 具体有待进一步研究。另外, 由于炒制后车前子种皮内表皮、外表皮细胞被破坏, 内胚乳细胞蛋白质变性, 故不将显微鉴别列入该药材质量标准中。

炒车前子作为常用药材, 目前尚无明确的炮制规范和质量标准。本实验所建立的炒车前子质量标准可操作性强, 能指导炮制品规范化生产, 为保证其临床疗效提供依据, 也对监督相关药物质量有着重要意义。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[2] 李 果, 张的凤, 王文凯, 等. 车前子炮制历史沿革[J]. 中药材, 2008, 31(5): 776-779.

[3] 郑秀棉, 杨 莉, 王峥涛. 车前子的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(7): 1190-1196.

[4] 梁瑞红, 秦淑英. 车前子真伪鉴别[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(8): 563-564.

[5] 陶玉杰. 车前子不同炮制品治疗慢性功能性便秘的临床疗效对比观察[J]. 中国实用医药, 2017, 12(31): 127-128.

[6] 刘振启, 刘 杰. “炒车前子”的炮制工艺与伪品鉴别[J]. 首都医药, 2009, 16(19): 33.

[7] 郭诗琦. 保健食品蓝莓酒肝清胶囊产品开发研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.

[8] 陈雪琴, 周仔莉, 贾文江, 等. 藿香正气丸的质量标准研究[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(1): 20-24.

[9] 张银梅, 赵慧慧. 溃疡散中木香草茛佛手的薄层色谱鉴别[J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(3): 66.

[10] 贾春燕, 李 娟, 陈 良. 炒茺蔚子质量标准的研究[J]. 新疆中医药, 2018, 36(5): 36-39.

[11] 王佰灵, 王淑美, 孟 江, 等. 鸡骨香药材水分、灰分及浸出物含量测定[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(17): 33-35.

[12] 宋洪伟, 毛 睿, 李丽红, 等. 延胡索炮制前后多组分质量控制方法的研究[J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(1): 63-67.

[13] 曲永梅. 开郁舒肝丸的指纹鉴定研究[J]. 吉林医药学院学报, 2008, 29(4): 204-206.

[14] 韩妮娜. 5 类中药新药开郁宁片的制备工艺及质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医学院, 2007.

[15] 杨冰月, 胡本祥, 张 琳, 等. 野生与栽培太白米 HPLC 指纹图谱及化学模式识别[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(5): 187-191.

[16] 周 滢, 舒承倩, 江 玉, 等. 盐制仙茅工艺的正交实验优选[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(8): 1897-1899.

[17] 胡 静, 童黄锦, 曾庆琪, 等. 种子类中药炒制过程化学成分变化机制研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(12): 2548-2556.