

蒲公英药材质量标准研究

李喜凤¹, 郝哲², 邱天宝¹, 余云辉¹, 杜云锋¹(1.河南中医学院, 郑州 450008; 2.中国人民解放军第一五三中心医院药械科, 郑州 450042)

摘要:目的 对中药材蒲公英的水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物及有效成分等物质质量进行研究, 建立蒲公英药材的质量标准。方法 采用 TLC 对蒲公英中咖啡酸、绿原酸进行定性鉴别, 应用 HPCE 对其有效成分进行含量测定, 按中国药典 2005 年版一部附录 IX H 水分测定法中的烘干法、附录 IX K 灰分测定法、附录 X A 浸出物测定法测定。结果 咖啡酸、绿原酸分别在 0.009 8~0.078 1 mg·mL⁻¹, 0.008 5~0.067 8 mg·mL⁻¹ 内呈良好线性关系。蒲公英的水分含量不得超过 10%, 总灰分不得高于 20%, 酸不溶性灰分不得高于 10%, 热浸法水溶性浸出物量不低于 25%, 冷浸法水溶性浸出物量不低于 20%。结论 此法简便、准确、能有效控制蒲公英药材的质量。

关键词: 蒲公英; 质量标准; 薄层色谱法; 高效毛细管电泳法

中图分类号: R285.2;R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)01-0054-04

基金项目: 河南省科技厅重点科技攻关资助项目(062306100)

作者简介: 李喜凤, 女, 教授, 硕士 Tel: (0371)65575823

E-mail: hzsunshine@126.com

Studies on the Quality Standard of *Taraxacum Mongolicum* Hand.-Mazz

LI Xifeng¹, HAO Zhe², QIU Tianbao¹, YU Yunhui¹, DU Yunfeng¹ (1.Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2.The PLA 153 Central Hospital, Zhengzhou 450042, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To set up the quality standards of *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz through determination of the contents of water extracts, total ashes, ashes indissoluble in acid, moisture and effective components in this herb. **METHODS** TLC was used for identification of caffeic acid and chlorogenic acid, and HPCE for content determination. These indexes were determined based on the procedures recorded in the Appendix IX H, IX K and X A of Ch.P(2005), for moisture, ashes and extracts determination respectively. **RESULTS** The calibration curve displayed good linear relationship within caffeic acid and chlorogenic acid, concentration range of 0.009 8–0.078 1 mg·mL⁻¹, 0.008 5–0.067 8 mg·mL⁻¹. The moisture in dandelion was less than 10%, with the total ashes content within 20%, ashes indissoluble in acid not higher than 10%, the content of water extracts with hot soak was higher than 25%, the content of water extracts was higher than 20%. **CONCLUSION** These datas are quantitatively referable for making the quality standards of *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz better.

KEY WORDS: dandelion; quality standard; TLC; HPCE

蒲公英始载于《神农本草经》，系菊科多年生草本植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz、碱地蒲公英 *Taraxacum sinicum* Kitag.或同属数种植物的干燥全草，具有清热解毒、消肿散结、利尿通淋之功效，为常用中药，历代药典均有记载。近年来有关蒲公英制剂质量标准的研究报道较多^[1-4]，而蒲公英药材的水分、总灰分、酸不溶性灰分及浸出物等常规项目的测定尚未见报道。中国药典 2005 年版仅对蒲公英药材的鉴别、含量测定作出相关规定，而对其他方面的质量标准均没有记载。这些常规项目的含量与药物的临床疗效、稳定性和安全性有密切关系。本试验对蒲公英的水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物等检测项目进行较为全面和系统的研究，为建立和完善蒲公英的质量标准体系，提供可靠的数据参考。

1 仪器与试剂

P/ACETM MDQ 毛细管电泳仪(美国 Beckman 公司); 未涂层弹性石英毛细管柱 75 μm, 50 cm/57 cm(分离长度/总长, 河北永年锐沣色谱器件有限公司); PHS-2SB 型数字酸度计(上海大谱仪器有限公司); YUEPING FA2004b 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司); DRZ-4 电阻炉温度控制器(天津市华北实验电炉厂); YUEXIN 101AS-2 型不锈钢数显电热鼓风干燥箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司); 水为娃哈哈纯净水, 所用试剂均为分析纯。

蒲公英药材均采自河南省内不同地区, 采集时间为 2009 年 5 月, 经河南中医学院生药学科陈随清教授鉴定为蒲公英属植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz 的干燥全草。咖啡酸对照

品(批号: 110885-200102, 纯度≥99.0%), 绿原酸对照品(批号: 110753-200413, 纯度≥99.0%)均由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别^[5]

取蒲公英粉末 1 g, 加甲醇 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙酸乙酯萃取 2 次, 每次 10 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取咖啡酸、绿原酸对照品适量, 分别加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 6 μL, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 板上, 以乙酸乙酯-甲酸-水(7:2.5:2.5)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(254 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。见图 1。

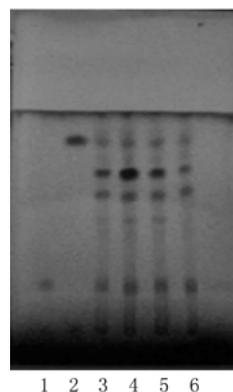


图 1 TLC 图谱

1-绿原酸; 2-咖啡酸; 3-6-样品

Fig 1 TLC chromatogram

1-chlorogenic acid; 2-caffeic acid; 3-6-sample

2.2 常规项目含量测定

水分测定按中国药典 2005 年版一部附录 IXH 水分测定法中的烘干法, 灰分测定按中国药典 2005 年版一部附录 IXK 灰分测定法, 浸出物测定按中国药典 2005 年版一部附录 XA 测定法分别采用热浸法及冷浸法对 10 个不同产地蒲公英进行测定, 结果见表 1。

表 1 不同产地蒲公英药材测定结果($n=3$)

Tab 1 The detection results of *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz from different habit($n=3$)

编号	产地	水分/ %	总灰分/ %	酸不溶性 灰分/%	热浸 出物/%	冷浸 出物/%
1	焦作博爱县	7.10	13.87	3.19	30.13	24.92
2	新乡市	7.83	16.41	5.86	28.34	25.04
3	开封市尉氏县	7.97	15.36	5.68	33.78	29.65
4	驻马店正阳县	7.05	16.26	4.64	33.28	29.56
5	济源市	7.26	18.74	4.91	33.2	26.42
6	洛阳市	8.29	16.44	3.41	27.94	22.95
7	南阳内乡县	7.83	15.34	6.61	36.69	30.46
8	南阳南召县	7.34	15.57	5.83	38.17	33.29
9	焦作温县	8.24	16.26	5.36	32.86	27.37
10	许昌禹州市	7.60	13.41	3.35	33.41	27.52

利用 SPSS 16.0 软件对表 1 数据进行单一样本 t 检验, 全部样品水分平均值(7.65 ± 0.45)%; 总灰分平均值为(15.77 ± 1.48)%, 酸不溶灰分平均值为(4.88 ± 1.21)%; 热浸法浸出物平均值为(32.78 ± 3.27)%; 冷浸法浸出物平均值为(27.72 ± 3.08)%。

2.3 有效成分含量测定

2.3.1 电泳条件 电压 18 kV; 压力进样 3.45 kPa; 进样时间 5 s; 检测波长 325 nm; 温度 25 °C; 硼砂浓度 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 调 pH 9.55)。实验前依次用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液、水、缓冲液依次冲洗 10, 10, 20 min, 进样前分别用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液、水、缓冲液依次冲洗 3, 2, 3 min。实验结束后用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液、水冲洗 10 min。所用溶液进样前均用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜滤过, 超声脱气 3 min。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称取咖啡酸、绿原酸对照品适量加 70% 甲醇溶解并制成浓度为 $0.0976 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0.0848 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 摇匀,

作为对照品贮备液, 按“2.3.1”项下方法进样测定, 见图 2。

2.3.3 供试品溶液制备 通过单因素试验及正交试验, 最终确定供试品溶液制备方法, 即: 取蒲公英细粉 1 g, 精密称定, 加入 40 mL 80% 乙醇, 水浴回流 1.5 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 15 mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙酸乙酯振摇萃取 4 次, 每次 15 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣用 70% 甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 即得。按“2.3.1”项下方法进样测定, 见图 2。

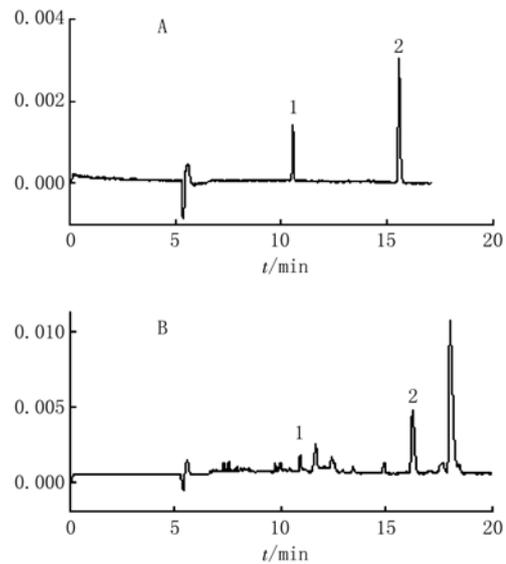


图 2 高效毛细管电泳色谱图

A-对照品; B-供试品; 1-绿原酸; 2-咖啡酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; 1-chlorogenic acid; 2-caffeic acid

2.3.4 线性关系考察 精密量取咖啡酸、绿原酸混合对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇定容至刻度, 摇匀。按“2.3.1”项下条件进样, 测定各组分的峰面积, 以浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标计算回归方程: 咖啡酸的回归方程为 $Y=1 \times 10^6 X-1115$, $r=0.9998$, 线性范围为: $0.0098 \sim 0.0781 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 绿原酸的回归方程为 $Y=48894X-1387.3$, $r=0.9998$, 线性范围为: $0.0085 \sim 0.0678 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3.5 仪器精密度试验 精密吸取同一咖啡酸、绿原酸混合对照品溶液, 按“2.3.1”项下

条件重复进样 5 次, 其峰面积 RSD 分别为 1.80%, 1.91%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取同一批蒲公英样品 5 份, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.1”项下条件进样测得咖啡酸、绿原酸峰面积 RSD 分别为 1.72%, 1.23%, 表明方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取供试品溶液 1 份, 每隔 2 h 进样, 连续 10 h, 结果咖啡酸、绿原酸的峰面积 RSD 分别为 1.69%, 1.71%, 表明咖啡酸、绿原酸在 10 h 内稳定。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取已知咖啡酸、绿原酸含量的蒲公英样品 0.5 g, 精密称定 9 份, 每 3 份加入 1, 1.2, 1.5 mL 混合对照品溶液, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算咖啡酸、绿原酸的平均回收率分别为 97.71%, 97.96%; RSD 为 1.05%, 1.44%。

2.3.9 样品测定 取不同产地的蒲公英药材, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.1”项下条件测定样品中咖啡酸、绿原酸的峰面积, 以外标法计算其含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定(n=3)

Tab 2 Determination of samples(n=3)

编号	产地	绿原酸含量 /mg·g ⁻¹	咖啡酸含量 /mg·g ⁻¹
1	焦作博爱县	0.236 2	0.235 9
2	新乡市	0.143 8	0.211 6
3	开封市尉氏县	0.179 9	0.388 8
4	驻马店正阳县	0.469 5	0.255 7
5	济源市	0.106 7	0.212 7
6	洛阳市	0.108 1	0.246 4
7	南阳内乡县	0.119 7	0.216 2
8	南阳南召县	0.152 0	0.455 3
9	焦作温县	0.293 6	0.243 6
10	许昌禹州市	0.120 6	0.264 4

3 讨论

对蒲公英定性鉴别时, 参考了中国药典 2005 年版咖啡酸定性鉴别方法, 加入绿原酸作为检测

指标, 二者在同一展开条件下, 斑点分离效果好, 样品与标准品在相应位置上显相同颜色的荧光斑点。用 GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 下检测比硅胶 G 板在 365 nm 下检测, 斑点更清晰, 故本实验选择 GF₂₅₄ 薄层板在 254 nm 下检测。

鉴于本品均来自野生资源, 各产地地形和气候等环境因素不同, 水分限量按照检查样品的平均值适当上浮, 暂定为不得超过 10%; 总灰分限量按照检查样品的平均值适当上浮, 暂定为不得超过 20%; 酸不溶灰分按照检查样品的平均值适当上浮, 暂定为不得超过 10%; 热浸法浸出物按照检查样品的平均值适当降低, 暂定为不得低于 25%; 冷浸法浸出物按照检查样品的平均值适当降低, 暂定为不得低于 20%。

对醇溶性浸出物进行含量测定, 在考察不同醇浓度对浸出物含量的影响时发现, 随着醇浓度的降低, 浸出物的含量随之升高。10%醇提取时浸出物的含量接近水溶性浸出物含量, 无水乙醇提取时浸出物含量最低。故没有再对其醇溶性浸出物含量进行考察。

本实验增加双成分的薄层鉴别, 以及水分、灰分、浸出物的检查项, 并结合 HPCE 对蒲公英中主要有效成分咖啡酸、绿原酸的含量测定, 从而为更加有效地控制药材的质量提供一定的科学依据。

REFERENCES

- [1] XIONG F L, LI Z X, CAO Z H, et al. Study on quality standard of Puqinxiaoyan tablets [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2004, 26(2): 103-105.
- [2] PAN J, LIANG J, XIE H M, et al. Study on quality standard of Dandelion extracts [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(9): 2064-2065.
- [3] SHENG X J, LIU W. Study on quality standard of compound Gongying tablets [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006, 28(12): 1853-1854.
- [4] CHEN F, HE B B, YANG X H. Study on quality standard for Puding mixture [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2006, 23(4): 319-321.
- [5] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版.一部) [S]. 2005: 244.

收稿日期: 2010-02-03