

贵州苗药翠云草生品及炒炭品质量标准研究*

王健, 王建科, 龙青山, 刘敏, 吴汉竹, 刘运枝, 朱丽婧

(贵州中医药大学, 贵州贵阳 550025)

【摘要】 目的: 通过对 10 批次翠云草生品及炒炭品质量进行研究, 建立其质量标准。方法: 对 10 批次翠云草饮片进行了显微鉴别、薄层鉴别、水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物、总黄酮测定等研究, 进行分析评价。结果: 建议翠云草生品饮片的质量标准中水分不得过 11.0%, 总灰分不得过 13.0%, 酸不溶性灰分不得过 5.0%, 醇溶性浸出物不得少于 20.0%, 总黄酮不得低于 1.4%; 炒炭品中水分不得过 9.0%, 总灰分不得过 20.0%, 酸不溶性灰分不得过 6.3%, 醇溶性浸出物不得少于 17.0%, 总黄酮不得低于 1.4%。结论: 初步建立了翠云草饮片量化质控标准评价体系。

【关键词】 翠云草, 炒炭品, 饮片质量标准, 总黄酮

【中图分类号】 R283 **【文献标识码】** :A **【文章编号】**: 10034563(2019)06-0022-05

苗药翠云草原植物为 *Selaginella uncinata* (Desv.) Spring 的全草, 性冷, 入热经, 具有清热解毒, 利湿, 止血的功效^[1]。现代研究表明翠云草含有双黄酮类、酚类、甾体皂苷等成分, 具有抗病毒、抗氧化、抗肿瘤等作用^[6-8]。现行 2015 年版《中国药典》及 2003 年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》中均未收载该药材, 且在贵州省内及其他省区有一定的蕴藏量。因此, 为保证翠云草饮片质量, 本项目从显微、薄层鉴别, 水分、灰分检查, 浸出物及总黄酮测定等方面对 10 批次翠云草饮片进行研究, 制定其质量标准, 为将来收入标准提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

紫外可见分光光度计 (TU-1810, 北京普析); 万分之一分析天平 (ME204E, 上海梅特勒-托利多), 十万分之一分析天平 (AUW120D, 日本岛津); 超声清洗机 (YQ-1000A, 上海易净); 粉碎机 (LDP-100, 浙江永康); 电热鼓风干燥箱 (101-A2B, 天津市泰斯特); 箱式电阻炉 (SX2-5-15, 炉南电阻烘箱厂)。

1.2 试剂

乙醇、甲醇、甲苯、乙酸乙酯、乙酸、甲酸均为分析纯, 三氯化铁, 氢氧化钠。

槲皮素 (批号: 100081-200907, 购自中国药品生物制品检定所); 穗花杉双黄酮 (批号: GZDD-0746, 购于贵州迪大科技有限责任公司)。

1.3 药材

1.3.1 样品来源

10 批次翠云草药材采自贵州省黄平、施秉、黎平等地，经贵州中医药大学药教研室孙庆文教授鉴定为卷柏科植物翠云草 *Sdagineella uncinata* (Desv.) Spring 的全草。

1.3.2 样品制备

生品：翠云草药材洗净，除去泥沙，切制成 2 cm 的段，晒干。

炒炭品：取翠云草段至预热的锅中，用中火加热炒至表面焦褐色、内部焦黄色时，取出，摊开，放凉^[4]。

2 药材鉴别

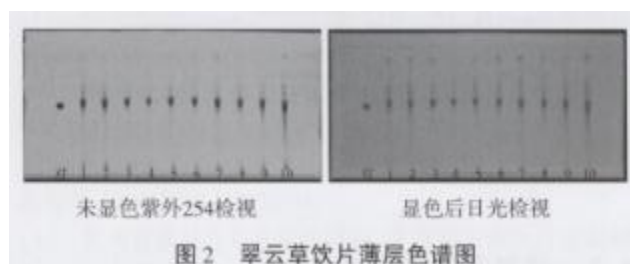
按 2015 版《中国药典》显微鉴定法（通则 2001），取翠云草粉末，用适量水合氯醛试液加热透化，滴加浓盐酸与间苯三酚试液染色，滴加稀甘油搅匀后盖片，于显微镜下观察，粉末特征见图 1。

本品粉末为灰绿色或黄褐色。叶表皮细胞长条形垂周壁呈深度弯曲状，或为不规则类圆形垂周壁微弯曲状；气孔不定式，副卫细胞 4～6 个；孢子类圆形，表面具刺状突起，直径 14～93 μm；叶边缘细胞多为不规则细长条形，尖端钝圆；管胞螺旋纹或梯纹；木栓细胞呈平直或弯曲的类方形或不规则多角形^[3]。



2.2 薄层鉴别

称取翠云草 0.5 g，加入乙醇 20 mL，超声 30min，放冷后过滤，滤液与适量水混合后用 20 mL 石油醚萃取，弃去石油醚液，挥干，加入 1 mL 乙醇溶解后作供试品溶液。另称取穗花杉双黄酮对照品适量，加乙醇制成 0.3 mg/mL 的对照品溶液。照薄层色谱法（2015 版《中国药典》第四部通则 0502）试验，吸取供试品溶液 2～3 μL，对照品溶液 5 μL，分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-乙酸（6 : 4 : 1 : 0.6）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 三氯化铁乙醇溶液进行显色；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同的斑点，结果见图 2。



3 检查

3.1 水分

按 2015 版《中国药典》水分测定法（通则 0832）测定生品、炮制品水分，结果见表 2、3。

3.2 灰分

按 2015 版《中国药典》灰分测定法（通则 2302）测定生品、炮制品总灰分及酸不溶性灰分，结果见表 2、3。

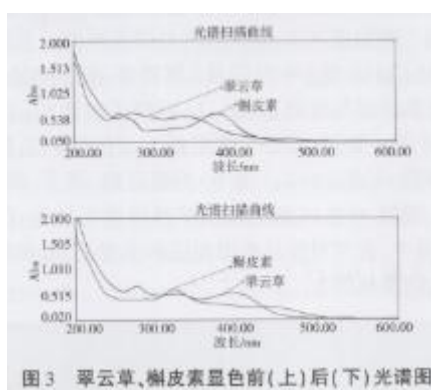
3.3 浸出物

按 2015 版《中国药典》浸出物测定法（通则 2201）热浸法测定 50%乙醇浸出物，结果见表 2、3。

4 含量测定

4.1 检测波长的确定

取翠云草样品溶液 0.5 mL 至 10 mL 容量瓶中，加入 NaOH 溶液 1 mL，定容；吸取 0.5 mL 已配置的槲皮素对照品溶液，按上述操作；另取 1 mL NaOH 溶液定容后作空白，分别在 200 ~ 600 nm 进行段波长扫描，结果样品及标准品在 323 nm 处有共同吸收峰，因此确定测定波长为 323 nm，见图 3。



4.2 对照品溶液制备

精密称取槲皮素对照品 2. 272 mg 至 100 mL 容量瓶中，用 60%乙醇溶解并稀释至刻度，得每 1 mL 含 0. 02272 mg 的槲皮素对照品溶液。

4.3 供试品溶液制备

取翠云草药材约 0.3 g，精密称定，加 60%乙醇回流提取 3 次，每次 0. 5 h，过滤，混合滤液，即得。

4.4 标准曲线绘制

精密吸取槲皮素对照品溶液 0.5 mL、1 mL、1.5mL、2. 0 mL、2. 5 mL、3. 0 mL、3. 5 mL 置 10 mL 容量瓶中，分别加入 1 mL 氢氧化钠显色，加 60%乙醇定容至刻度，摇匀，以相应试剂作为空白，在 323 nm 处测定吸亮度，以槲皮素浓度为横坐标，吸亮度为纵坐标，绘制标准曲线，得回归方程为 $Y=0.1031X+0.0273$ ($r=0.9998$)，结果表明槲皮素在 1. 136 ~7. 952 μ g/mL 浓度范围内线性良好。

4. 5 精密度试验

精密吸取槲皮素对照品溶液 2 mL，按“标准曲线绘制”项下方法显色，连续测定 6 次，精密度平均值为 0. 493，RSD = 0. 73%，表明仪器精密度良好，适于翠云草总黄酮的测定实验。

4. 6 重复性试验

取药材粉末平行制备 6 份供试液，精密吸取 1mL，按“标准曲线绘制”项下方法显色，测定，计算总黄酮含量平均值为 1. 77%，RSD = 1. 99%。表明方法的重复性良好。

4. 7 稳定性试验

精密吸取同一批次供试品溶液 1 mL，按“标准曲线绘制”项下方法显色，分别于 0 h、1 h、2 h、4 h、8 h 测定，吸亮度 RSD= 0. 95%，表明供试液制备后 8h 内稳定。

4.8 加样回收率试验

取 6 份同一批药材粉末各约 0. 15 g，精密称定，分别加入适量槲皮素对照品溶液，按“4. 3”项制备供试液，精密吸取 1 mL，按“标准曲线绘制”项下方法显色，测定，计算总黄酮平均回收率为 91. 97%，RSD =1. 73%。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

称样量 /g	已知含量 /mg	加入量 /mg	吸光度	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
0.1498	2.4232	2.727	0.377	5.0878	97.71		
0.1499	2.4248	2.727	0.376	5.0732	97.12		
0.1500	2.4264	2.727	0.378	5.1023	98.13		
						97.97	1.73
0.1496	2.4199	2.727	0.383	5.1751	101.03		
0.1501	2.4280	2.727	0.374	5.0441	95.93		

0.1504	2.4329	2.727	0.378	5.1023	97.89
--------	--------	-------	-------	--------	-------

4.9 样品测定

分别精密称取翠云草生品及炒炭品样品粉末各约 0.3 g，按“4.3”项下制备供试品溶液，精密吸取 1mL，按“标准曲线绘制”项下方法显色，于 323 nm 波长处测定吸亮度。结果见表 2、3。

表 2 翠云草生品各项质量指标结果 (n=3)

样品 编号	水分 /%	总灰分 /%	酸不溶性灰分 /%	浸出物 /%	总黄酮含量 /%
1	9.31	9.71	2.03	22.67	1.74
2	8.61	12.07	4.25	25.97	1.78
3	9.56	11.54	3.73	23.41	1.81
4	9.18	11.20	4.10	23.87	1.87
5	8.18	12.05	4.61	22.59	1.73
6	8.09	10.87	3.00	22.25	1.53
7	8.12	10.51	3.50	22.9	1.76
8	7.98	10.16	3.20	22.27	1.99
9	7.48	10.27	3.29	22.95	1.94
10	7.46	10.32	3.27	22.74	1.81

表 3 翠云草炒炭品各项质量指标结果 (n=3)

样品 编号	水分 /%	总灰分 /%	酸不溶性灰分 /%	浸出物 /%	总黄酮含量 /%
1	7.82	14.4	3.32	22.37	1.76
2	6.09	16.88	3.98	21.72	1.77
3	7.96	17.38	4.59	19.83	1.7
4	6.38	16.59	5.12	18.89	1.72
5	7.68	18.93	7.03	19.85	1.7
6	6.71	17.32	4.04	21.18	1.81
7	6.06	15.95	4.97	18.43	1.58
8	6.44	15.64	4.9	20.2	1.63
9	7.25	16.75	5.11	20.48	1.72
10	5.56	15.81	5.06	20.49	1.66

5 结语

5.1 结论

翠云草生品的水分含量在 7.46% ~9.56%之间,平均含量为 8.40%;总灰分含量在 9.71%~12.07%之间,平均含量为 10.87% ;

酸不溶性灰分含量在 2.03% ~ 4.61%之间, 平均含量为 3.50%;醇溶性浸出物含量在 22.25%~25.97%之间, 平均含量为 23.16% ; 总黄酮含量在 1.53% ~ 1.99%之间, 平均含量为 1.80%。翠云草炒炭品的水分含量在 5.56% ~ 7.96%之间, 平均含量为 6.80% ; 总灰分含量在 14.40%~18.93%之间, 平均含量为 16.57% ; 酸不溶性灰分含量在 3.32% ~ 7.03%之间, 平均含量为 4.81%;醇溶性浸出物含量在 18.43% ~22.37%之间, 平均含量为 20.34% ; 总黄酮含量在 1.58% ~ 1.81%之间, 平均含量为 1.71%。

5.2 讨论

翠云草浸出物的实验考察结果表明热浸均高于冷浸, 乙醇浓度为 50%时测得的含量最高, 且随着乙醇浓度的增高, 浸出物含量呈明显下降的趋势。从测定结果来看, 翠云草饮片中的总灰分及酸不溶性灰分含量偏高, 且炒炭后增加明显。据文献报道, 蕨类植物会从环境中吸收、蓄积无机物^[5], 而翠云草属蕨类植物, 药用部位为全草, 采集后根部占药材比例较少, 而导致其所含的灰分及酸不溶性灰分较高, 这是否与含有的无机盐类成分较多有关, 有待进一步研究。

参考文献【REFERENCES】

- [1]邱德文, 杜江. 中华本草: 苗药卷[M]. 贵阳: 贵阳科技出版社, 2005:582.
- [2]国家药典委员会. 中国药典: 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [3]刘义梅, 刘葭, 陈科力. 翠云草的生药鉴别研究[J]. 中国药师, 2014, 17(2) : 232-234.
- [4]贵州省食品药品监督管理局. 贵州省中药饮片炮制规范(2005年版) [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2005 : 285-287.
- [5]郑洁敏, 唐世荣, 陈子元, 等. 蕨类植物对无机污染物的吸收[J]. 核农学报, 2005, 19(2) :155-159.