

接骨木饮片质量标准研究

何亚芬, 江锐*, 屈婷婷, 胡美英, 郑露盼, 方文超

(上饶市检验检测认证院, 上饶 334000)

摘要:目的 建立接骨木饮片的质量标准, 以解决现有质量标准缺乏统一规范导致的市场饮片质量参差不齐的问题, 为接骨木饮片的标准化生产和临床应用提供科学依据。**方法** 采用性状鉴别、薄层色谱鉴别、水分及灰分测定、浸出物测定和绿原酸含量测定等方法, 对来自不同产地的17批接骨木饮片样品进行质量控制研究。**结果** 确定接骨木的薄层色谱鉴别展开系统为环己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲酸(5:2:1:0.1), 薄层色谱图斑点清晰, 分离度好; 根据17批样品的测定值制定了标准限度值, 水分不得过9.0%、总灰分不得过3.5%、酸不溶性灰分不得超过0.5%、浸出物不得少于6.0%; 经高效液相色谱测定, 17批样品绿原酸含量在0.086~0.458 mg/g之间。**结论** 所建立的方法准确可靠, 重复性以及稳定性表现良好, 能够有效地对接骨木饮片的质量进行控制, 为完善接骨木饮片的质量标准提供了科学的方法和有力的依据。

关键词: 接骨木; 质量控制; 薄层色谱鉴别; 绿原酸; 含量测定

0 引言

接骨木(*Sambucus williamsii* Hance)为忍冬科植物, 其干燥茎枝可入药, 具有祛风利湿、活血止痛功效, 用于治疗骨折肿痛、风湿痹症等^[1-2]。《中华人民共和国药典》^[3]未收载接骨木饮片, 现有质量标准不统一, 导致市场饮片质量参差不齐。研究表明, 接骨木茎枝主要活性成分为酚酸类、黄酮类、三萜类及木脂素类化合物^[4], 其中, 酚酸类化合物具备抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降血脂等功效^[5]; 黄酮类化合物具有抗炎、抗氧化、抗衰老、免疫调节以及抗肿瘤等作用^[6]; 三萜类化合物能够发挥抗癌、解热、镇痛等功效^[7]; 木脂素类化合物则具有抗骨质疏松、抗氧化等作用^[8]。本研究采用性状及薄层色谱鉴别, 结合水分、灰分、浸出物和绿原酸含量测定^[9-10], 建立全面质量控制方法, 为接骨木饮片的标准化生产和临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1260 II型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)、FA2004B型万分之一电子天平(上海精密仪器有限公司)、BT25S型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司)、

ZC-150KC型超声波清洗仪(深圳市圳超科技有限公司)、KSW-4D型箱式电阻炉(天津天有利科技有限公司)、DHG-9202-3S型电热鼓风干燥箱(上海鸿都电子科技有限公司)。

熊果酸对照品(批号110742-202424, 中检院, 纯度99.7%); 绿原酸对照品(批号110753-202018, 中检院, 纯度96.1%)。硅胶G薄层板、硅胶H薄层板、硅胶GF₂₅₄薄层板, 均购自于青岛海洋化工有限公司。用于色谱分析的甲醇、乙腈和甲酸, 均采购自赛默飞世尔科技中国分公司; 分析纯甲醇购自于国药集体化学试剂有限公司; 娃哈哈纯净水。17批样品采购于云南、江苏、湖北、安徽、黑龙江、四川、贵州等地, 经副主任药师彭任辉鉴定为忍冬科接骨木属植物接骨木的干燥茎枝, 编号为JGM01~JGM17。

1.2 实验方法

1.2.1 性状鉴别

观察饮片外形、颜色、断面特征, 测量长度与直径, 同时记录质地、气味等相关信息。

1.2.2 薄层色谱鉴别

称1g样品粉末, 加25mL无水乙醇, 加热回流30min后过滤, 滤液蒸干, 残渣用2mL甲醇溶解得供试

基金项目: 2024年上饶市科技计划一般项目(20241CZDX51)。

第一作者: 何亚芬, 硕士, 工程师, 研究方向为食品药品质量安全。

* 通信作者: 江锐, 助理工程师, 研究方向为食品药品质量安全。E-mail: 2522430424@qq.com

品溶液。另配 1 mg/mL 熊果酸对照品溶液。按《中华人民共和国药典》(2020 年版)四部薄层色谱法, 取供试品和对照品溶液各 5 μ L, 分别点样于硅胶 G、H、GF₂₅₄ 薄层板上, 用环己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲酸(5:2:1:0.1)、石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-丙酮-甲酸(4:2:0.1)、环己烷-乙酸乙酯-丙酮(5:2:1)展开。展开后晾干, 喷 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 365 nm 紫外光下检视。

1.2.3 水分、总灰分、酸不溶性灰分检查项

取 17 批供试品进行粉碎处理, 使其能通过二号筛。水分测定依照《中国药典》(2020 年版)四部通则 0832 第二法烘干法执行; 总灰分以及酸不溶性灰分的测定则依据《中国药典》(2020 年版)四部通则 2302 的规定操作。

1.2.4 浸出物

依据《中国药典》(2020 年版)四部通则 2201 中浸出物测定法的指导, 最终确定选用稀乙醇作为溶剂, 热浸法作为接骨木浸出物测定的标准方法。

1.2.5 绿原酸含量测定

(1) 色谱条件: Waters XBridge BEH Shield RP18 Column 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 2.5 μ m), 检测波长 325 nm, 进样体积 10 μ L, 流速 0.6 mL/min, 柱温 35 $^{\circ}$ C, 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(8:92)。

(2) 对照品溶液的制备: 精确称取适量的绿原酸对照品, 加入甲醇溶解, 配制成质量浓度分别为 59.89 μ g/mL 的对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备: 称取 3.0 g 粉碎后的接骨木粉末, 放入带塞锥形瓶, 加 50 mL 水, 加热回流 1 h, 过滤后蒸干滤液, 残渣中加 25 mL 80% 甲醇, 称重后超声提取(300 W, 45 kHz) 30 min。冷却后补重, 摇匀过滤, 经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 即得。

2 结果与分析

2.1 性状鉴别

接骨木饮片是忍冬科接骨木干燥茎枝的加工品, 呈圆柱形或类圆形段状、斜切片, 直径约 0.5~3 cm, 段长 1~3 cm, 片厚 2~5 mm。外皮灰褐色至棕褐色, 有纵皱纹及密集的横向皮孔, 栓皮可残留或脱落, 木部黄白色, 皮部褐色, 界限分明。质硬而脆, 断面不平整, 髓部大而松软, 呈海绵状或中空, 占断面 1/3~1/2。气微, 味微苦, 嚼之有黏滑感。鉴别时, 髓部大、横向皮孔密集、木部色浅、皮部色深是关键特征, 需与杂木区分。见图 1。

2.2 薄层色谱鉴别

使用环己烷-乙酸乙酯-丙酮-甲酸(5:2:1:0.1)

作为展开剂时, 主斑点的 R_f 值理想, 分离度高, 斑点集中且不拖尾, 因此选定该展开剂。硅胶 G 薄层板分离效果最佳。图 2 显示, 不同产地和批次的接骨木样品与熊果酸对照品在相应位置呈现相同颜色的荧光斑点, 特征一致且具有专属特性, 可利用薄层色谱法进行定性鉴别。

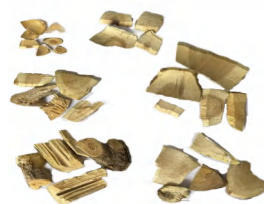


图 1 药材外观

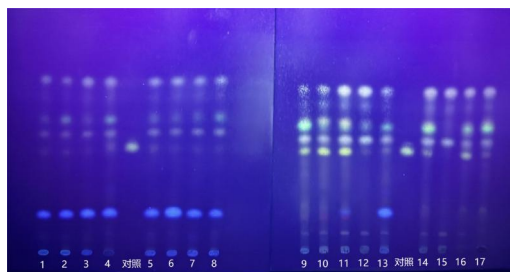


图 2 接骨木薄层鉴别色谱图(紫外灯 365 nm 下检视)

2.3 水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物测定及限度规定

2.3.1 检查项测定结果

按照 1.2.3 和 1.2.4 项下方法测定 17 批样品的水分、总灰分、酸不溶性灰分和浸出物, 结果见表 1。

2.3.2 限度规定

接骨木检测指标限度范围: 水分 5.74%~8.96%, 均值 7.7%, 暂设限度不超过 9.0%; 总灰分 0.49%~2.64%, 均值 1.1%, 暂设限度不超过 3.5%; 酸不溶性灰分 0.065%~0.284%, 均值 0.13%, 暂设限度不超过 0.5%; 浸出物 6.30%~12.78%, 均值 8.2%, 暂定限度不少于 6.0%。这些限度可保障接骨木饮片的质量与药效。

2.4 绿原酸的含量测定

2.4.1 系统适用性试验

各取 10 μ L 的 1.2.5 项下对照品溶液与供试品溶液, 依据 1.2.5 中的色谱条件进行进样测定, 并记录色谱图。结果显示, 以绿原酸峰计算, 理论塔板数不低于 3500, 绿原酸峰与相邻峰的分度度达 2.6, 基线分离状况良好, 具体可见图 3。

2.4.2 线性关系考察

针对 1.2.5 项下制备的对照品溶液, 依次吸取 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 μ L 进行进样操作, 详实记录绿原酸峰面积数据。运用最小二乘法对数据进行线性回归分析, 得出回归方程 $Y=39.105X-12.258$

($r^2=0.9995$)。这一结果表明, 在 0.60~71.87 μg 的进样量区间内, 绿原酸呈现出良好的线性关系。

表 1 检查项检测结果($n=2$)

编号	水分 /%	总灰分 /%	酸不溶性灰分 /%	浸出物 /%
JGM01	5.74	0.60	0.079	8.23
JGM02	7.75	0.49	0.067	6.39
JGM03	7.79	0.75	0.060	8.08
JGM04	8.70	2.56	0.189	7.21
JGM05	8.82	1.77	0.284	6.30
JGM06	6.99	0.66	0.091	6.89
JGM07	7.22	0.55	0.131	7.02
JGM08	7.56	0.78	0.102	10.83
JGM09	8.67	2.64	0.124	9.32
JGM10	8.96	1.83	0.275	12.78
JGM11	7.86	0.61	0.195	6.48
JGM12	5.85	0.66	0.089	9.98
JGM13	6.76	0.86	0.103	7.93
JGM14	8.45	0.63	0.099	7.75
JGM15	8.94	1.73	0.134	7.39
JGM16	8.07	1.61	0.178	8.29
JGM17	7.03	0.54	0.065	8.12

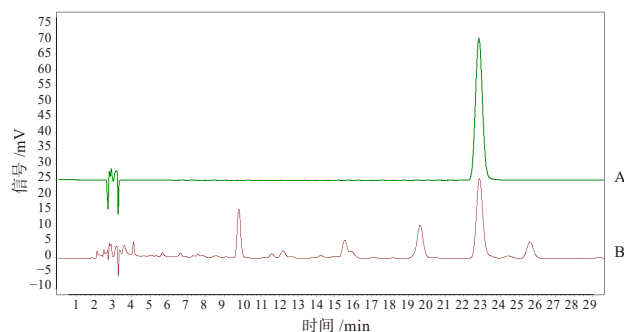


图 3 绿原酸对照品(A)和接骨木供试品(B)HPLC 图

2.4.3 精密性、重复性、稳定性试验

通过连续 6 次进样对照品溶液, 计算绿原酸峰面积的相对标准偏差(RSD)为 1.12%; 对同一批次的供试品粉末(JGM08)进行六份独立制备和分析, 结果显示绿原酸峰面积的 RSD 为 0.92%; 对一份供试品粉末(JGM08)制备的溶液, 在 24 h 内不同时间点进行分析, 绿原酸峰面积的 RSD 为 0.56%。表明所采用的 HPLC 方法在精密性、重复性和稳定性方面均表现良好。

2.4.4 加样回收率试验

准确称取 6 份已知含量的 JGM08 供试品, 向其中分别加入 11.99 μg 的绿原酸标准品溶液, 按照 1.2.5 所述方法制备供试品溶液, 再依据 1.2.5 所列色谱条件进行进样分析, 记录色谱峰面积并计算回收率。回收率在 99.20%~100.91% 之间, RSD 为 0.64%, 表明所采用的测定方法具有良好的回收率。

2.4.5 供试品的含量测定

取适量 17 批供试品(约 3.0 g), 分别按 1.2.5 项下方

法制备供试品溶液, 再按 1.2.5 项下色谱条件进样测定, 记录绿原酸峰面积并计算样品含量。结果见表 2。

表 2 含量测定结果($n=3$)

编号	含量 / (mg/g)	编号	含量 / (mg/g)	编号	含量 / (mg/g)
JGM01	0.237	JGM07	0.168	JGM13	0.368
JGM02	0.274	JGM08	0.191	JGM14	0.406
JGM03	0.294	JGM09	0.111	JGM15	0.394
JGM04	0.318	JGM10	0.120	JGM16	0.412
JGM05	0.240	JGM11	0.090	JGM17	0.458
JGM06	0.256	JGM12	0.086		

3 讨论与结论

本研究优化了薄层色谱法, 测定了绿原酸含量, 并结合多项指标形成全面质量控制体系。尽管样本数量有限、未涉及其他活性成分和药效毒理研究, 但为接骨木饮片的标准化生产和临床应用提供了科学依据。下一步可扩大样本、开展多成分分析及药效学研究, 进一步完善质量标准。本研究所建立的方法结果准确可靠, 重复性以及稳定性表现良好, 能够有效地对接骨木饮片的质量进行控制。该研究为完善接骨木饮片的质量标准提供了科学的方法和有力的依据。

参考文献

- [1] 郭宇兰, 刘克武, 宗宪春. 接骨木概况及遗传多样性研究进展[J]. 中国林副特产, 2019, (4): 82-86.
- [2] 崔明悦, 陈媛媛, 姚俊修, 等. 接骨木的价值研究进展[J]. 落叶果树, 2021, 53(6): 47-49.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [4] 李巧月, 李莲慧, 李大山, 等. 接骨木属植物化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中国药房, 2021, 32(9): 1118-1130.
- [5] 李胜男, 曹坦, 刘雅萍. 药用植物中咖啡酰奎宁酸类化合物的研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(7): 45-51.
- [6] 莫红芳, 石宗承, 刘磊, 等. 植物类黄酮的药理作用及其在畜禽生产中的应用[J]. 动物医学进展, 2024, 45(9): 119-122.
- [7] 杨洪飞, 闵清. 三萜类化合物的药理作用研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(1): 67-69+2.
- [8] 李海波, 马森菊, 石丹枫, 等. 川楝子的化学成分、药理作用及其毒性研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(15): 4059-4074.
- [9] 陈丽妃, 方兆祥, 诸葛智鑫, 等. 祛风活络胶囊质量检验方法优化及质量标准提升研究[J]. 中国中医药科技, 2025, 32(2): 243-247.
- [10] 汪正宇, 郭秀秀, 方敏, 等. 香茶菜质量标准研究[J]. 中国药业, 2022, 31(17): 68-73.