

小包装中药饮片地黄中梓醇和毛蕊花糖苷质量 稳定性研究

汪露露¹, 许纪锋¹, 钱 勇^{1*}, 谢绚影¹, 梅利中², 金金花²

(1. 上海诗丹德生物技术有限公司, 上海 201203; 2. 上海华浦中药饮片有限公司, 上海 201203)

摘 要: **目的** 考察小包装中药饮片地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的质量稳定性。**方法** 用2015年版《中国药典》梓醇和毛蕊花糖苷的检测方法, 先进行影响因素(高温、高湿、强光照射)实验的考察, 再采用加速实验和长期实验考察其质量稳定性。**结果** 小包装中药饮片地黄在高温条件下梓醇含量明显降低, 真空包装小包装饮片地黄质量稳定性好于常规包装。在25℃、RH 60%条件下储存的小包装中药饮片地黄梓醇和毛蕊花糖苷稳定性超过6个月。**结论** 该研究可为小包装中药饮片地黄的保存条件和有效期提供依据。

关键词: 小包装中药饮片; 地黄; 梓醇; 毛蕊花糖苷; 质量稳定性; 影响因素实验

Research on quality stability of catalpol and verbascoside in small package of Chinese medicine pieces of *Rehmannia glutinosa*

WANG Lu-Lu¹, XU Ji-Feng¹, QIAN Yong^{1*}, XIE Xuan-Ying¹, MEI Li-Zhong², JIN Jin-Hua²

(1. Shanghai Naturestandard R&D Biotech Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Huapu Chinese Herbal Medicine Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the quality stability of catalpol and verbascoside in small package of Chinese medicine pieces of *Rehmannia glutinosa*. **Methods** According to the content detection method in *Chinese Pharmacopoeia* (2005 edition), the different factors (high temperature, high humidity and strong light) were analyzed firstly, and then the accelerated experiment and long-term experiment were used to investigate its quality and stability. **Results** The content of catalpol was significantly decreased under high temperature. The quality and stability of small package pieces of *Rehmannia glutinosa* in vacuum packaging was better than that in conventional packaging. Under the conditions of 25℃ and RH 60%, the small package of Chinese medicine pieces of *Rehmannia glutinosa* was valid for 6 months. **Conclusion** The study can provide the basis for the preservation condition and validity period of small package of Chinese medicine pieces of *Rehmannia glutinosa*.

KEY WORDS: small package of Chinese medicine pieces; *Rehmannia glutinosa*; catalpol; verbascoside; quality stability; influencing factors experiment

基金项目: 上海市科委科研计划项目(15DZ229190)

Fund: Supported by Science and Technology Research Program of STCSM (15DZ2291900)

*通讯作者: 钱勇, 工程师, 主要研究方向为中药和健康食品的检测及化学成分研究。E-mail: Qianyong2232@163.com

*Corresponding author: QIAN Yong, Engineer, Shanghai Naturestandard R&D Biotech Co., Ltd., Shanghai 201203, China. E-mail: Qianyong2232@163.com

1 引言

地黄为玄参科植物地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch.)的新鲜或干燥块根。秋季采挖,除去芦头、须根及泥沙,鲜用;或将地黄缓缓烘焙至约八成干。前者习称“鲜地黄”,后者习称“生地黄”^[1]。鲜地黄具有清热生津,凉血,止血的作用^[2]。生地黄具有清热凉血,养阴生津的作用^[3-8]。化学成分和药理活性研究表明环烯醚萜苷类和糖类是地黄的主要化学成分和活性部位。梓醇是地黄中含量最高的环烯醚萜单糖苷,为地黄的主要活性成分之一,化学稳定性较差^[9]。小包装中药饮片在临床的使用逐年递增,得到了临床医生和广大患者认可^[10,11]。

关于小包装中药饮片地黄稳定性研究的报道较少,对小包装中药饮片地黄的有效期也无相关规定,本研究分别设置不同湿度、温度、包装方式等因素对地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量稳定性进行考察,并采用加速实验和长期实验对质量稳定性进行了考察,地黄中主要含梓醇和毛蕊花糖苷2种成分,通过对小包装中药饮片地黄中2种成分的含量进行测定,从而确定小包装中药饮片地黄的质量稳定性^[12-15]。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); SHH-100GD 药品强光照射试验箱(重庆市永生实验仪器有限公司); LHH-0250SD 药品稳定性试验箱(上海一恒科学仪器有限公司); 真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

对照品梓醇(批号:110808-201210)、毛蕊花糖苷(批号:111530-201512)均来自中国食品药品检定研究院;小包装中药饮片地黄样品(上海华浦中药饮片有限公司)。

乙腈(色谱纯,上海安谱实验科技有限公司); 乙酸乙酯(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); 醋酸、磷酸(分析纯,上海泰坦科技股份有限公司); 水为实验室自制超纯水。

2.2 梓醇含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液(1:99, V:V); 检测波长为 210 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL。理论板数按梓醇峰计算应不低于 5000。

2.2.2 供试品溶液的制备

取地黄切成约 5 mm 的小块,经 80 ℃减压干燥 24 h 后,磨成粗粉,取约 0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL 称定重量,加热回流提取 1.5 h,放冷,

再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,浓缩至近干,残渣用流动相溶解,转移至 10 mL 容量瓶中,并用流动相稀释至刻度、摇匀、过滤、取续滤液,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备

取梓醇对照品适量,精密称定,加流动相制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液,即得。

测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.3 毛蕊花糖苷含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: ZORBAX XDB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%醋酸溶液(16:84, V:V); 检测波长为 334 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL。理论板数按毛蕊花糖苷峰计算应不低于 5000。

2.3.2 供试品溶液的制备

精密量取梓醇含量测定项下续滤液 20 mL,减压回收溶剂近干,残渣用流动相溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 对照品溶液的制备

取毛蕊花糖苷对照品适量,精密称定,加流动相制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液,即得。

测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.4 稳定性考察

2.4.1 不同条件下试验

(1)高温实验

取 3 个批次的小包装中药饮片地黄,在 60 ℃条件下放置 10 d,于 0、10 d 取样按上述 2.2 和 2.3 方法检测。

(2)高湿实验

取 3 个批次的小包装中药饮片地黄,在 25 ℃、相对湿度(relative humidity, RH) 92.5%条件下放置 10 d,于 0、10 d 取样按上述 2.2 和 2.3 方法检测。

(3)强光照射实验

取 3 个批次的小包装中药饮片地黄,在 4500 lx 条件下放置 10 d,于 0、10 d 取样,按上述 2.2 和 2.3 方法检测。

2.4.2 加速实验

取同一批次地黄饮片,采用 2 种不同形式进行小包装,一种是常规包装,一种是真空包装,分别在 30 ℃、RH 65%条件下进行试验,于 0、1、2、3、6 个月末取样检测,按上述 2.2 和 2.3 方法测定并与常态下的药材相比较。

2.4.3 长期实验

长期试验是在接近药品的实际贮存条件下进行的稳定性试验,本实验是取 3 批小包装中药饮片地黄样品在 25 ℃、RH 60%条件下,分别于 0、3、6、9 个月取样,按上述 2.2 和

2.3 方法检测。

3 结果与分析

3.1 稳定性结果

高温、高湿、强光照射实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷含量测定结果如表 1。

实验表明：小包装中药饮片地黄在高温条件下梓醇含量明显降低，而毛蕊花糖苷的含量变化程度较小，地黄

在高湿的条件下会吸潮，水分含量增大，但对梓醇和毛蕊花糖苷的含量几乎没有影响，强光照射对地黄中梓醇和毛蕊花糖苷几乎无影响。但不同条件处理后含量均大于药典标准($\geq 0.20\%$)。

3.2 加速实验结果

常规包装的加速实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定结果如表 2，真空包装的加速实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定结果如表 3。

表 1 高温、高湿、强光照射实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷含量测定结果
Table 1 Determination results of catalpol and verbascoside in *Rehmannia glutinosa* under high temperature, high humidity and strong light

条件	批号	时间(d)	梓醇含量(%)	药典标准(%)	毛蕊花糖苷含量(%)	药典标准(%)
高温	1	0	0.24	≥ 0.20	0.037	≥ 0.020
		10	0.16		0.035	
	2	0	0.25		0.039	
		10	0.16		0.030	
	3	0	0.24		0.064	
		10	0.17		0.053	
高湿	1	0	0.24		0.037	
		10	0.24		0.037	
	2	0	0.25		0.039	
		10	0.23		0.038	
	3	0	0.24		0.064	
		10	0.24		0.052	
强光照射	1	0	0.24		0.037	
		10	0.24		0.030	
	2	0	0.25		0.039	
		10	0.23		0.034	
	3	0	0.24		0.064	
		10	0.22		0.050	

表 2 加速实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定结果(常规包装)
Table 2 Determination results of catalpol and verbascoside in *Rehmannia glutinosa* under accelerated experiment (conventional packaging)

时间	梓醇含量(%)	药典标准(%)	毛蕊花糖苷含量(%)	药典标准(%)
0 月	0.36	≥ 0.20	0.039	≥ 0.020
1 月	0.36		0.039	
2 月	0.35		0.036	
3 月	霉变		霉变	

表 3 加速实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定结果(真空包装)
Table 3 Determination results of catalpol and verbascoside in *Rehmannia glutinosa* under accelerated experiment (vacuum packaging)

时间	梓醇含量(%)	药典标准(%)	毛蕊花糖苷含量(%)	药典标准(%)
0 月	0.38	≥ 0.20	0.039	≥ 0.020
1 月	0.38		0.032	
2 月	0.36		0.031	
3 月	0.28		0.028	
6 月	0.27		0.026	

表 4 长期实验地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定结果

Table 4 Determination results of catalpol and verbascoside in *Rehmannia glutinosa* under long-term experiment

批次	时间	梓醇含量(%)	药典标准(%)	毛蕊花糖苷含量(%)	药典标准(%)
1	0 月	0.95	≥0.20	0.26	≥0.020
	3 月	0.63		0.17	
	6 月	0.65		0.085	
	9 月	霉变		霉变	
2	0 月	0.38		0.074	
	3 月	0.34		0.051	
	6 月	0.30		0.033	
	9 月	霉变		霉变	
3	0 月	0.27		0.048	
	3 月	0.24		0.046	
	6 月	0.24		0.027	
	9 月	霉变		霉变	

实验表明: 在 30 ℃、RH 65%条件下, 常规包装的样品较容易吸潮发生霉变, 真空包装的样品密封性较好, 不易吸潮, 但梓醇和毛蕊花糖苷含量虽有下降的趋势, 但在有效期内均符合药典标准要求, 质量稳定。

3.3 长期试验结果

长期试验是在接近药品的实际贮存条件下进行的稳定性试验, 本实验是取 3 批小包装中药饮片地黄样品在 25 ℃、RH 60%条件下, 分别于 0、3、6、9 个月取样检测。含量测定结果如表 4。

实验表明: 在 25 ℃、RH 60%条件下, 常规小包装中药饮片地黄在 6 个月后性状会发生霉变, 但梓醇和毛蕊花糖苷的含量符合药典标准的要求, 如果包装得当, 小包装中药饮片地黄的有效期可达到半年以上。

4 结 论

本研究通过考察小包装中药饮片地黄在不同环境条件下有效成分地黄和毛蕊花糖苷随时间变化, 以认识和预测其稳定趋势, 为药材生产、包装、贮存条件的确定和有效期的建立提供科学依据, 梓醇为环烯醚萜苷类化合物, 其化学性质活泼, 易被水解和氧化, 导致梓醇大幅降低, 稳定性差^[16]。小包装中药饮片地黄中梓醇的含量易受到温度的影响而减少, 不易在高温条件下保存, 而毛蕊花糖苷的热稳定性高于梓醇^[17]。另外真空包装的小包装中药饮片地黄质量稳定性好于常规包装的小包装中药饮片。小包装中药饮片地黄的储存条件应在 30 ℃、RH 65%条件或以下。在 25 ℃、RH 60%条件下储存的小包装中药饮片地黄梓醇和毛蕊花糖苷质量稳定性超过 6 个月。如果能解决包装防止霉

变问题, 小包装中药饮片地黄的有效期可以更长。

参考文献

[1] 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, 2015.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (First Volume) [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2015.

[2] Tao JH, Zhao M, Ling Y, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based metabolic profiles of bioactive components in rehmannia glutinosa, and cornus officinalis, herb pair by rat intestinal bacteria [J]. Chin Herb Med, 2017, 9(2): 147-152.

[3] Huang Y, Qin T, Huang Y, et al. *Rehmannia glutinosa* polysaccharide liposome as a novel strategy for stimulating an efficient immune response and their effects on dendritic cells [J]. Int J Nanomed, 2016, 11: 6795-6808.

[4] Xue JP, Ge DY, Zhang AM, et al. Progress on research of tissue culture of *Rehmannia glutinosa* [J]. China J Chin Mater Med, 2003, 28(12): 1114-1117.

[5] Ji Q, Sun P, Qi JJ, et al. Study on distribution and dynamic accumulation of catalpol and total iridoid in fresh *Rehmannia glutinosa* [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(3): 466.

[6] Wang Y, Liao D, Qin M, et al. Simultaneous determination of catalpol, aucubin, and geniposidic acid in different developmental stages of *Rehmannia glutinosa* leaves by high performance liquid chromatography [J]. J Anal Methods Chem, 2016, (2): 1-6.

[7] Wu LK, Chen J, Wu HM, et al. Comparative proteomics analysis of *R. glutinosa* tuber root in response to consecutive monoculture [J]. Acta Agron Sin, 2016, 42(2): 243.

[8] Wu L, Wang J, Huang W, et al. Plant-microbe rhizosphere interactions mediated by *Rehmannia glutinosa* root exudates under consecutive monoculture [J]. Sci Reports, 2016, 5: 15871.

- [9] 吴涛. 高效液相色谱法测定地黄中梓醇及毛蕊花糖苷的含量[J]. 黑龙江科技信息, 2016, (19): 106.
- Wu T. Determination of catalpol and verbascoside in *Rehmannia glutinosa* by high performance liquid chromatography [J]. Heilongjiang Sci Technol Inf, 2016, (19): 106.
- [10] 付文娇, 卞丽, 赵臻. 中医医院小包装中药饮片推广使用情况分析[J]. 数理医药学杂志, 2012, 25(2): 192-194.
- Fu WJ, Bian L, Zhao Z. The analysis of the promotion and the use of small package of Chinese herbal medicine of Chinese medicine hospitals [J]. J Math Med, 2012, 25(2): 192-194.
- [11] 侯玉婷, 杨明华, 顾维钧, 等. 小包装中药饮片的利弊分析及发展对策[J]. 中医药导报, 2016, 22(7): 73-76.
- Hou YT, Yang MH, Gu WJ, et al. Analysis on the advantages, disadvantages and countermeasures of small package of Chinese herbal pieces [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2016, 22(7): 73-76.
- [12] Xu C P, Zhao S, Liu Y, et al. Chemical composition and comparison of the *Rehmannia glutinosa* Libosch oil using steam distillation and solvent extraction [J]. J Biol Active Prod Nat, 2016, 6(1): 25-31.
- [13] Jin KH, Min YH, Oran K, et al. The effect of *Pueraria Lobata/Rehmannia Glutinosa* and exercise on fatty acid transporters expression in ovariectomized rats skeletal muscles [J]. J Exerc Nutr Biochem, 2016, 20(3): 32-38.
- [14] 孟祥龙, 马俊楠, 张朔生, 等. 熟地黄炮制(九蒸九晒)过程中药效化学成分变化及炮制辅料对其影响研究[J]. 中草药, 2016, 47(5): 62-69.
- Meng XL, Ma JN, Zhang SS, et al. Content changes of chemical components and their effect of adjuvant during the process of *Rehmanniae Radix* praeparata (steamed for nine times and shined for nine times) [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2016, 47(5): 62-69.
- [15] 柴茂, 董诚明, 江道会, 等. 不同品种怀地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的高

效液相色谱法测定[J]. 中医学报, 2013, 28(5): 81-83.

Chai M, Dong CM, Jiang DH, et al. Determination of catalpol and verbascoside of different cultivars *Rehmannia Glutinosa* Libosch by high performance liquid chromatography [J]. China J Chin Med, 2013, 28(5): 81-83.

- [16] Li H, Hong T, Jiang H, et al. The effects of *Rehmannia Glutinosa* polysaccharide on immune function of mice [C]. International Conference on Information Technology in Medicine and Education, 2015.

- [17] Wang JL, Meng XL, Lu RH, et al. Effects of *Rehmannia glutinosa*, on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila*, in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Aquaculture, 2015, 435: 293-300.

(责任编辑: 姜 珊)

作者简介



汪露露, 主要研究方向为中药和健康食品的检测及化学成分研究。

E-mail: wangll@nature-standard.com



钱 勇, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为中药和健康食品的检测及化学成分研究。

E-mail: Qianyong2232@163.com