

青皮具有抗肿瘤、抗氧化等多种药理活性^[4]。但核桃青皮的利用率逐步降低,在核桃采收时节常被作为垃圾到处堆放,造成环境污染^[1]。若加大对核桃青皮低极性部位抑菌活性的研究,从分子水平上阐明其药效物质基础和作用机理,在食品防腐、广谱抗生素及农业生产等领域将有巨大的应用潜力。

参考文献:

[1] 赵岩,刘淑萍,吕朝霞. 核桃青皮的化学成分与综合利用[J]. 农产品加工, 2008(11): 66-68.
[2] 吕海宁,折改梅,吕扬. 核桃和核桃楸的化学成分及生物活性的研究进展[J]. 华西药学期刊, 2010, 25(4): 142-147.
[3] 江苏新医学院. 中药大辞典下册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988: 1544.
[4] 高莉,王艳梅,帕提古丽·马合木提. 核桃分心木粗提物抑菌活性的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 69-71.

[5] 徐巍. 青龙衣的药用研究概述[J]. 中医药信息, 2002, 19(6): 13.
[6] Winfield MD, Groisman EA. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli* [J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(7): 3687-3694.
[7] Ryan KJ, Ray CG. Sherris Medical Microbiology (4th Ed) [M]. McGraw Hill: New York, United States, 2004: 261-271.
[8] 张建斌,柳军玺,邱多隆,等. 天然产物中环状二芳基庚烷类化合物的研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1263-1268.
[9] Lee KS, Li G, Kim SH, et al. Cytotoxic diarylheptanoids from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. J Nat Prod, 2002, 65(11): 1707-1708.
[10] Li G, Seo CS, Lee SH, et al. Diarylheptanoids from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. Bull Korean Chem Soc, 2004, 25(3): 397-399.
[11] Liu JX, Di DL, Huang XY, et al. Two new diarylheptanoids from the pericarps of *Juglans regia* L [J]. Chin Chem Lett, 2007, 18(8): 943-946.

收稿日期: 2010-05-20

二十五味大汤丸中药材的鉴别及羟基红花黄色素 A 的测定

叶本贵¹, 吴 娅¹, 阿 萍², 王 曙^{1*}, 次旦多吉²

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 西藏自治区药品检验所, 西藏 拉萨 810000)

摘要: 目的 建立鉴别常用藏药二十五味大汤丸和测定羟基红花黄色素 A 的方法。方法 采用薄层色谱法和高效液相色谱法鉴定和测定。结果 二十五味大汤丸中没食子酸、角茴香、木香、藏木香和乌奴龙胆均能通过薄层色谱进行鉴别, 羟基红花黄色素 A 含量的回收率为 99% ~ 105%。结论 所用方法可用于控制二十五味大汤丸的质量。

关键词: 二十五味大汤丸; 质量控制; 薄层鉴别; 羟基红花黄色素 A

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)02-0152-03

Identification of the drugs and determination of saffcomin A in Ershiwuwei Datang pills

YE Ben-gui¹, WU Ya¹, A Ping², WANG Shu^{1*}, CIDAN Duo-jie²

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041 P. R. China; 2. Institute for Drug Control of Tibet, Lasha, Xizang, 81000 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a TLC identification method and an HPLC method for determination of saffcomin A in Ershiwuwei Datang pills. **METHODS** TLC and HPLC method were adopted. **RESULTS** The established TLC method was used to identify gallic acid, *Radix Aucklandiae*, *Herba Hypecoe* and *Herba Gentianae*. Saffcomin A in Ershiwuwei Datang pills was determined by HPLC. **CONCLUSION** The methods can be used to control the quality of Ershiwuwei Datang pills.

Key words: Ershiwuwei Datang pills; Quality control; TLC; Saffcomin A

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)02-0152-03

二十五味大汤丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准 藏药》1995 年版, 为常用藏成药。原标准无含量测定项, 且理化鉴别项过于简单, 为了提高

标准的质量可控性和规范性, 现对二十五味大汤丸进行了薄层色谱鉴别, 并采用 HPLC 法测定了红花中的有效成分羟基红花黄色素 A 的含量。

基金项目: 十一五国家科技支撑计划资助项目(项目编号: 2007BAI31B02)

作者简介: 叶本贵, 男, 正攻读药学专业的硕士学位。Email: beguiye513@yahoo.com.cn

* 通信作者(Correspondent author) ,Email: suwang571@126.com

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

LC-10AT HPLC 仪、SPD-10A 紫外可见检测器(日本岛津);SS420X 色谱工作站(美国奥泰)。对六羟基红花黄色素 A、没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:111737-200905、0831-9501);二十五味大汤丸供试品(西藏雄巴拉区神水藏药厂,批号:20090201、20090202、20090203;西藏自治区藏药厂,批号:07352A;西藏聂拉木神猴藏药厂,批号:08294A);各味藏药材(西藏自治区药检所)经鉴定符合《中国药典》《卫生部药品标准》藏药分册有关品种项下要求。

1.2 薄层色谱的鉴别^[1]

1.2.1 没食子酸的鉴别 取 3 g 本品细粉,加 10 mL 无水乙醇,超声处理 30 min,上清液作为供试品溶液。另取没食子酸对照品,加乙醇制成 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。另取 4 g,按处方配制缺少诃子、毛诃子、余甘子和石榴子的阴性对照药材,同法制成阴性对照溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 5 μL ,点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(6:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的黑颜色斑点,阴性样品无干扰(图 1A)。

1.2.2 角茴香的鉴别 取 2 g 本品,加 20 mL 乙醚,超声处理 60 min,过滤,滤液蒸干,残渣加 1 mL 甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取 1 g 角茴香对照药材,同法制成对照药材溶液。另取 4 g,按处方配制缺少角茴香的阴性对照药材,同法制成阴性对照溶液。分别吸取 10 μL 上述 3 种溶液,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同的绿色荧光斑点,阴性样品无干扰(图 1B)。

1.2.3 木香的鉴别 取 3 g 本品细粉,加 30 mL 乙醚超声处理 30 min,过滤,蒸干,残渣中加 1 mL 甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取 0.5 g 木香对照药材,同法制成对照药材溶液。另取 4 g,按处方配制缺少木香的阴性对照药材,同法制成阴性对照溶液。分别吸取 10 μL 上述 3 种溶液,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-丙酮(8:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸试液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药

材色谱相应位置上,显相同的蓝色斑点,阴性样品无干扰(图 1C)。

1.2.4 藏木香的鉴别 取 3 g 本品,加 30 mL 乙醚,超声处理 30 min,过滤,滤液蒸干,残渣中加 2 mL 乙醚使溶解,作为供试品溶液。另取 1 g 藏木香对照药材,同法制成对照药材溶液。另取 4 g,按处方配制的缺少藏木香的阴性对照药材,同法制成阴性对照溶液。分别吸取 10 μL 上述 3 种溶液,点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)-乙酸乙酯(85:15)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸试液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同的暗紫色斑点,阴性样品无干扰(图 1D)。

1.2.5 乌奴龙胆的鉴别 取 2 g 本品,加 20 mL 乙醚,超声处理 60 min,过滤,滤液蒸干,残渣中加 2 mL 甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取 0.2 g 乌奴龙胆对照药材,同法制成对照药材溶液。另取 4 g,按处方配制缺少乌奴龙胆的阴性对照药材,同法制成阴性对照溶液。吸取 10 μL 供试品溶液、5 μL 对照药材溶液、10 μL 阴性对照溶液,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)-乙酸乙酯(5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同紫色的斑点,阴性样品无干扰(图 1E)。

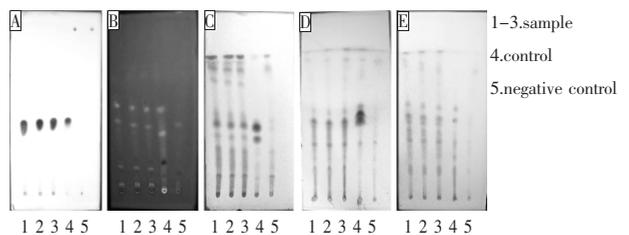


图1 没食子酸(A)、角茴香(B)、木香(C)、藏木香(D)和乌奴龙胆(E)的薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatograms of gallic acid(A) *Herba Hypecoe*(B), *Radix Aucklandiae*(C), *Radix Inulae*(D) and *Herba Gentianae Urnulae*(E)

1.3 高效液相色谱法测定^[2]含量

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 Welchrom C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm 5 μm),流动相为甲醇-乙腈-0.5% 磷酸溶液(26:2:72),柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$,流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长 403 nm。

1.3.2 溶液的配制 用 25% 甲醇溶液配制 0.5 mg \cdot mL⁻¹ 羟基红花黄色素 A 的对照品溶液。取约 3 g 本品装量差异项下的内容物,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50 mL 25% 甲醇,称定重量,超声处理 40 min,放冷,再称定重量,用 25% 甲醇补足减

失的重量,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品溶液。按处方比例称取适量除去红花的其他药材,依照二十五味大汤丸的制备工艺和供试品溶液的制备方法,制成阴性对照溶液。分别吸取羟基红花黄色素 A 对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液,按“1.3.1”项条件分别测定。羟基红花黄色素 A 的分离效果好,阴性对照溶液无干扰(图 2)。

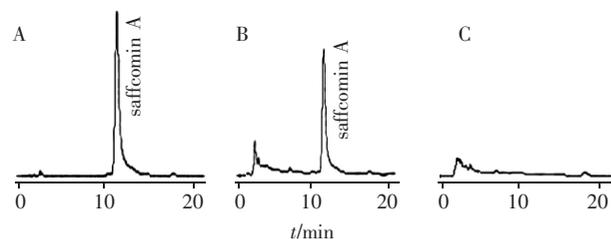


图 2 羟基红花黄色素 A 对照品(A)、样品(B)和阴性对照(C)溶液的色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of control solution(A), sample solution(B) and blank solution(C)

1.3.3 线性关系的考察 精密吸取 0.5、2 mL 1.11 mg·mL⁻¹ 羟基红花黄色素 A 对照品溶液,置 10 mL 量瓶中,用 25% 甲醇稀释并定容,得 0.0555、0.2220 mg·mL⁻¹ 的对照品液。分别精密吸取 3 种对照品液进样。以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标进行回归处理,回归方程为: $Y = 2.1485 \times 10^6 X - 5.1333 \times 10^3$ ($R^2 = 0.9996$ $n = 6$)。羟基红花黄色素 A 进样量 0.2775 ~ 0.5550 μg 与峰面积的线性关系良好。

1.3.4 精密度实验 分别精密吸取 10 μL 羟基红花黄色素 A 对照品溶液,重复进样 6 次,测得羟基红花黄色素 A 对照品峰面积的 $RSD = 0.22%$ ($n = 6$)。表明系统精密度良好。

1.3.5 重复性实验 分别精密称取约 3 g 二十五味大汤丸的样品粉末,共 6 份,按“1.3.2”项下的方法制备供试品溶液。再按“1.3.1”项下色谱条件测定羟基红花黄色素 A。计算得样品中羟基红花黄色素 A 含量的平均值为 0.580 mg·g⁻¹, $RSD = 0.98%$ ($n = 6$);表明该方法的重复性良好。

1.3.6 稳定性实验 按“1.3.2”项方法制备供试

品溶液,分别于配制后 0、2、4、6、8、10、12、24 h 时,按照“1.3.1”项下的色谱条件测定峰面积。计算得羟基红花黄色素 A 峰面积的 $RSD = 0.50%$ ($n = 8$),表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

1.3.7 加样回收实验 分别精密称取约 3 g 已知羟基红花黄色素 A 含量的样品 6 份,置 6 个具塞锥形瓶中,再分别加入 1.0 mL 对照品溶液 (0.2220 mg·mL⁻¹) 按“1.2.1”“1.2.2”项下方法制备供试品溶液并注入高效液相色谱仪中,测定含量。结果表明:羟基红花黄色素 A 的平均回收率为 99.15%, $RSD = 0.34%$ ($n = 6$)。

1.3.8 样品的含量测定 按“1.2.1”项条件,分别测定 3 批样品中羟基红花黄色素 A 的含量。所测含量分别为 0.600、0.602、0.596 mg·g⁻¹, $RSD = 0.57%$ ($n = 3$)。

2 讨论

二十五味大汤丸由红花、诃子、毛诃子、波棱瓜子和木香等二十五味药材组成^[3]。没食子酸、木香、角茴香、乌奴龙胆、藏木香的鉴别效果较佳,均可纳入质量标准。对兔儿草、獐牙菜和波棱瓜子的 TLC 鉴别时,阴性样品有干扰,多次试验,干扰均不能消除;未能从样品中检出豆蔻、渣驯膏、木瓜等的薄层色谱鉴别斑点,可能与这些药材的成分结构有关,文中未做深入探讨。原标准中用柚皮苷作为对照品对骨碎补进行鉴别,而课题组收集的二十五味大汤丸样品中所用的实为中华槲蕨的根茎(不含柚皮苷)。

参考文献:

- [1] 王曙. 常用藏药理化鉴别与含量测定[M]. 成都: 四川科学技术出版社 2002: 126 - 127.
- [2] 张幸福. HPLC 测定藏药十四味羚牛角丸中的羟基红花黄色素 A[J]. 华西药学期刊 2009 24(1): 86 - 87.
- [3] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社 2005: 103.

收稿日期: 2010 - 01 - 07