

不同产地山合欢皮中(-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷含量的比较*

干国平, 朱红, 师磊, 史克莉, 刘焱文

(湖北中医学院, 武汉 430061)

摘要 目的: 建立 HPLC 法测定山合欢皮中(-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(SG)的含量, 并比较不同产地山合欢皮中 SG 的含量。方法: 色谱柱 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-水(34:66), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 210 nm, 柱温 30 ℃。结果: SG 在 0.02~0.5 μ g 范围内, $r = 0.9997$ ($n = 5$); 平均加样回收率为 99.8%, RSD 为 1.7%, $n = 6$ 。结论: 本方法简便易行, 准确可靠; 不同产地药材中 SG 的含量差异明显。

关键词: 山合欢皮; (-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(SG); 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)04-0606-03

Comparison of the content of (-)-syringaresinol-4-*O*- β -*D*-glucosidase in *Albizia kalkora* (Roxb.) Prain from different source*

GAN Guo-ping ZHU Hong SHI Lei SHI Ke-li LU Yan-wen

(Traditional Chinese Medicine of Hubei Wuhan 430061, China)

Abstract Objective To establish an HPLC method for the determination of the content of (-)-syringaresinol-4-*O*- β -*D*-glucosidase(SG) in *Albizia kalkora* (Roxb.) Prain, and compare of the content of SG in *Albizia kalkora* (Roxb.) Prain from different sources. **Method** Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) was adopted with the mobile phase consisting of methanol-water(34:66) at the flow rate of 1.0 mL · min⁻¹, column temperature was 30 ℃, detection wavelength was set at 210 nm. **Results** The standard curve for SG was linear in the range of 0.02-0.5 μ g the average recovery was 99.8%, RSD was 1.7% ($n = 6$). **Conclusion** The method is simple, accurate. The difference of the content of SG is significant in *Albizia kalkora* (Roxb.) Prain from different source.

Key words *Albizia kalkora* (Roxb.) Prain; (-)-syringaresinol-4-*O*- β -*D*-glucosidase; HPLC

山合欢皮为豆科植物山合欢 *Albizia kalkora* (Roxb.) Prain 的树皮。现代研究表明山合欢皮与合欢皮的药理作用基本相同, 具有镇静、免疫增强以及抗生育的作用^[1,2]。为利用该药用资源, 本课题组对山合欢皮镇静安神的活性部位及活性成分进行了较系统的研究, 确定(-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(SG)为其主要活性成分之一^[1,3]。本文采用 HPLC 法对不同产地山合欢皮药材中 SG 的含量进行了比较分析研究, 为评价和控制山合欢皮药材质量提供科学依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪; BP-211D 型十

万分之一分析天平。

SG 对照品: 本实验室提供, HPLC 法测定其纯度 98% 以上; 10 批山合欢皮药材经湖北中医学院中药鉴定教研室鉴定。

2 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(34:66), 检测波长 210 nm, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 ℃。进样量: 10 μ L; 理论塔板数不低于 5000。见图 1。

3 溶液的制备

3.1 对照品溶液 精密称取 SG 对照品适量, 加甲醇制成 25 μ g · mL⁻¹ 的溶液, 即得。

* 湖北省 2004 年教育厅自然科学类重点科研项目 (2004D009)

第一作者 Tel: (027) 61287995 E-mail: ganguop@sina.com

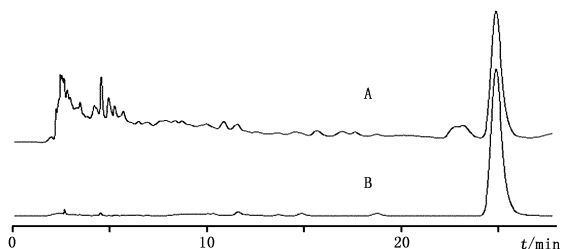


图 1 山合欢皮中 SG 的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatogram of SG in *Albizia kalkora* (Roxb.) P. in

A. 样品 (sample) B. SG 对照品 (SG reference substance)

3.2 供试品溶液

3.2.1 提取溶剂及提取方法的选择 取样品适量粉末 (过 3 号筛) 约 8 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别以不同浓度的乙醇为提取溶剂, 浸泡 2 h 后, 分别采用回流提取和超声 (250 W, 300 Hz) 提取。实验结果表明, 回流提取法提取时间较长, 制备的供试品溶液色谱中杂质峰较多, 影响测定; 超声提取法方法简便, 以 80% 乙醇为溶剂超声提取效果较好, 且供试品色谱中杂质峰较少。见表 1。

表 1 提取溶剂及提取方法的选择

Tab 1 Selection of extraction solvent and the method

提取方法 (extraction method)	提取溶剂 (extraction solvent)	SG 含量 (content of SG) %
回流提取 (reflux extraction) 120 min	60% 乙醇 (alcohol)	0.0061
	80% 乙醇 (alcohol)	0.0073
	乙醇 (alcohol)	0.0073
超声提取 (ultrasonic extraction) 30 min	60% 乙醇 (alcohol)	0.0056
	80% 乙醇 (alcohol)	0.0073
	乙醇 (alcohol)	0.0071

3.2.2 提取时间的选择 取样品粉末 (过 3 号筛) 约 8 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 以 80% 乙醇为提取溶剂, 浸泡 2 h 后, 分别超声 (250 W, 300 Hz) 提取 15, 30, 45 min。实验结果表明, 以 80% 乙醇为提取溶剂超声提取 30 min 即可提取完全。

3.2.3 萃取次数的考察 实验结果表明, 用水饱和的正丁醇萃取 4 次, 每次 20 mL, 即可萃取完全。

3.2.4 供试品溶液的制备 取样品粉末 (过 3 号筛) 约 8 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 80% 乙醇 50 mL, 称定重量, 浸泡 2 h 超声 (250 W, 300 Hz) 提取 30 min, 再称定重量, 用 80% 乙醇补足减失重量, 摇匀, 滤过。精密吸取续滤液 25 mL, 水浴蒸

干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用氯仿 20 mL 萃取, 弃去氯仿液, 水液再用水饱和的正丁醇萃取 4 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

4 方法与结果

4.1 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20 μL, 按上述色谱条件进样并测定峰面积。以 SG 的峰面积为纵坐标, 进样量 (μg) 为横坐标进行线性回归, 其回归方程为:

$$Y = 544.6X - 36.197 \quad r = 0.9997$$

线性范围为 0.02~0.5 μg

4.2 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 测定, 结果 RSD 为 2.0% (n = 5), 结果表明仪器精密度良好。

4.3 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 在 0, 2, 4, 8, 12 h 进行测定, RSD 为 0.57%, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

4.4 重复性试验 取同一批药材样品粉末共 6 份, 每份约 8 g 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 结果 SG 平均含量为 0.0072%, RSD 为 0.52% (n = 6), 结果表明方法重复性良好。

4.5 加样回收率试验 取已知含量的同一批样品粉末共 6 份, 每份 4 g 精密称定, 分别精密加入 SG 对照品溶液 10 mL (浓度为 15 μg·L⁻¹), 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 测定。结果, SG 的平均加样回收率为 99.8%, RSD 为 1.7% (n = 6)。

4.6 样品测定 精密称取不同产地的药材粉末 (过 3 号筛) 约 8 g 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 进样 10 μL, 测定, 以外标法按峰面积计算 SG 的含量, 结果见表 2。

表 2 10 批山合欢皮中 SG 的含量测定结果 (n = 3)

Tab 2 Content of SG in the sample of different source

编号 (No.)	来源 (source)	含量 (content) %
1	采自湖北英山县 [Yingshan (Hubei)]	0.0072
2	购自广东广州 [Guangzhou (Guangdong)]	0.0047
3	购自新疆乌鲁木齐 [Wulumuqi (Xinjiang)]	0.0075
4	购自广西南宁 [Nanning (Guangxi)]	0.0033
5	购自河南安阳 [Anyang (Henan)]	0.0065
6	购自湖北武汉 [Wuhan (Hubei)]	0.0049
7	购自江苏无锡 [Wuxi (Jiangsu)]	0.0019
8	购自上海 [Shanghai]	0.0088
9	购自山东威海 [Weihai (Shandong)]	0.0034
10	购自辽宁沈阳 [Shenyang (Liaoning)]	0.0054

5 讨论

SG为木脂素苷化合物,药理实验结果表明,其为山合欢皮镇静作用活性成分。本文将SG作为评价山合欢皮药材质量的指标,采用HPLC法测定了其的含量,方法简便、准确,可作为山合欢皮药材质量控制依据。

从含量测定结果可以看出,上述10个产地(购买地)山合欢皮中SG的含量差异明显,这是否由于药材产地、生长年限或采收季节等因素的影响所致,尚待进一步研究。

致谢: 本实验在湖北中医学院中药资源与中药复方省部共建教育部重点实验室完成。

参考文献

- 1 ZOU Kun(邹坤). The study of chemical composition and biological activity of *Albizia julibrissin* Durazz(合欢皮化学成分及生物活性研究): [Dissertation(博士学位论文)]. Beijing(北京): Beijing Medical University(北京医科大学), 1998
- 2 WEI Dong-hong(蔚冬红), QIAO Shan-yi(乔善义), ZHAO Yimin(赵毅民). The study overview of the traditional Chinese medicine *Albizia julibrissin* Durazz(中药合欢皮研究概况). *China Journal of Materia Medica* (中国中药杂志), 2004, 19(7): 619
- 3 Junei K injo Katsura Fukui Hiroyuki Higuchi *et al*. The first isolation of lignan tri- and tetra- glycosides *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(6): 1623

(本文于2008年1月2日收到)

中检所李云龙所长会见 JICA 中日友好药物安全评价监测中心项目事后评估团

2009年3月25日上午,中检所所长李云龙、副所长王军志会见了JICA中日友好药物安全评价监测中心项目事后评估团。评估团由日本财团法人国际开发高等教育机构事业部长冈田尚美女士、日本财团法人国际开发高等教育机构事业部主任房前理惠女士和在华咨询人员赵海东先生一行组成。

此次JICA事后评估团是受JICA委托,对中检所安评中心在JICA中日友好药物安全评价监测中心项目结束后在中国发挥的作用进行评估。

首先,李云龙所长对JICA事后评估团的来访表示欢迎,并指出在JICA中日友好药物安全评价监测中心项目执行期间,日方向我所提供了必要的仪器设备,派遣128名专家学者指导GLP的实施,接受中方研修人员25名。通过中日双方政府各级有关部门的大力支持,检定所安评中心建立了完整的符合GLP规范的QAU体系和SOP管理体系,通过了日本检查团的终期评估,是我国首次由国际GLP专家认可达到能按国际GLP规范要求开展药物安全性评价工作的中心,对于推动中国药品非临床安全性评价中GLP规范的全面实施,保证公众的用药安全,发挥着十分重要的示范作用。李云龙所长对日方提供的支持与帮助表示由衷的感谢,希望中检所在与日本JICA 5年友好技术合作的基础上加强与扩大我所与日方在药物安全评价监测等相关领域的合作与交流,要借鉴前5年合作中积累的经验,进一步有效务实地开展今后的合作。JICA事后评估团充分肯定了5年间双方合作所取得的成效和项目结束后安评中心在药物安全评价监测工作中所取得的新的进展。王军志副所长向日方介绍了中检所的业务概况、药品检测相关政策及标准、GLP标准检测执行情况和中检所对安评中心的发展所发挥的作用,并介绍了安评中心安全评价技术平台的建设得到科技部和863重大专项专家组的高度评价,目前安评中心已经开始进行包括生物技术药物在动物体内生物分布、药物毒代动力学等的安全评价工作,并与日方讨论了相关领域的工作。

参加此次会见的还有中检所国际合作处处长李玲、安评中心王秀文副主任和王雪副主任。

(中检所国际合作处供稿)