

弱酸(pH值为3~7)条件下有利于丹酚酸A、丹酚酸B的转化。丹酚酸D在水溶液和乙醇溶液中转化后产物不同,说明丹酚酸D在水和乙醇溶液中的转化途径存在一定的差异。

在制剂生产过程中丹酚酸D溶液应处在低温及弱酸条件下,以防止丹酚酸D发生转化,导致成分量减少。

参考文献:

[1] 赵娜,郭治昕,赵雪,等. 丹参的化学成分与药理作用[J]. 国外医药:植物药分册,2007,22(4):155-160.
[2] Li Yongguo, Song Long, Liu Mei, et al. Advancement in analysis of *Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (Danshen) [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 1941-1953.
[3] 陈磊,陆茵,郑仕中. 丹参药理活性成分的整合效应

[J]. 中草药,2009,40(3):476-479.

[4] 朱静,陈慧清,白鹏,等. 丹酚酸B水溶液分解反应的动力学研究[J]. 中成药,2009,31(4):541-544.
[5] 李志刚,顾群,渠守峰,等. 一种丹参丹酚酸A的制备方法:中国,CN200710099618.8[P]. 2008-11-26.
[6] 程翼宇,叶正良,吴永江,等. 一种复方丹参滴丸质量控制方法:中国,CN200510055262.9[P]. 2008-04-16.
[7] Jiang Renwang, Lau Kitman, Hon Poming, et al. Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12(2): 237-246.
[8] 徐德然,王康才,王峥涛,等. 丹参中丹参素、原儿茶醛来源的初步研究[J]. 中国天然药物,2005,3(3):148-150.
[9] 李耿,于长安,李振坤,等. 丹参煎煮化学成分溶出规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(8):46-49.
[10] 李建萍,贺英菊,闫根全,等. 均匀设计法优选丹参提取液中丹参素的转化生成工艺[J]. 中成药,2008,30(12):1855-1857.

GC法同时测定牵牛子脂肪油中5种脂肪酸

范鑫歆, 毕开顺, 马超, 鲁雪峰, 陈晓辉*
(沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 测定牵牛子脂肪油中的棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸。方法 采用毛细管气相色谱法,对被测成分甲酯化后测定。色谱柱为DB-Wax毛细管柱(30 m×0.25 mm φ.25 μm);检测器为FID;程序升温,起始温度170℃,以10℃/min升至230℃后,保持5min;分流比15:1。结果 棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸质量浓度分别在0.04~0.57 mg/mL($r=0.9996$)、0.01~0.18 mg/mL($r=0.9996$)、0.02~0.35 mg/mL($r=0.9998$)、0.05~0.82 mg/mL($r=0.9997$)、0.004~0.06 mg/mL($r=0.9994$)范围内,与峰面积呈良好的线性关系;平均回收率($n=9$)分别为98.5%、96.4%、97.2%、98.2%、95.7%。结论 本法简便、准确、重复性好,可用于牵牛子脂肪油的质量控制。

关键词:牵牛子;脂肪酸;毛细管气相色谱法

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:1001-1528(2011)09-1553-04

Simultaneous determination of fatty acid in seed of *Pharbitis nil* (L.) Choisy by GC

FAN Xin-xin, BI Kai-shun, MA Chao, LU Xue-feng, CHEN Xiao-hui*
(Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

KEY WORDS: seed of *Pharbitis nil* (L.) Choisy; fatty acid; GC

牵牛子为旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 或圆叶牵牛 *P. purpurea* (L.) Voigt 的

干燥成熟种子,收载于2010版《中国药典》。具有泻水通便、消痰涤饮、杀虫攻积等作用。用于水肿胀

收稿日期:2010-11-12

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20875064);国家教育部博士点基金(20102134110007)

作者简介:范鑫歆(1985—),女,硕士生,从事中药质量标准的研究。Tel:(024)23986296, E-mail:fanxinxin_syphu@yahoo.com.cn

*通信作者:陈晓辉,女,教授,从事药物质量控制分析方法研究。Tel:(024)23986259, E-mail:xhc_syphu@yahoo.com.cn

满、二便不通、痰饮积聚、气逆喘咳和虫积腹痛等^[1]。牵牛子脂肪油为淡黄色或黄色的澄明油状液体,味淡,无臭,为牵牛子中有效成分,含有量较大。近年来,仅有气-质联用法对牵牛子脂肪油中成分进行鉴定的报道^[2],但未见对其成分进行定量测定的报道。本实验对牵牛子脂肪油中5种脂肪酸测定方法进行了研究^[3-10],以期为控制牵牛子脂肪油的质量提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 6890A 毛细管气相色谱仪,Agilent 2000 色谱工作站,氢火焰离子化检测器(FID),AG-BP210S 电子分析天平(Sartorius 公司)。棕榈酸甲酯(批号:18824)、硬脂酸甲酯(批号:13450)、油酸甲酯(批号:18834)、亚油酸甲酯(批号:20040)、亚麻酸甲酯(批号:20196)、豆蔻酸甲酯(批号:14337)均由北京百灵威化学试剂有限公司提供,纯度均大于99%。石油醚、正己烷和无水硫酸钠等均为分析纯,购自天津大茂化学试剂厂。牵牛子药材共10批,产地分别为浙江,江苏,上海,黑龙江,河北,辽宁,四川,吉林,天津,山东等,经沈阳药科大学孙启时教授鉴定为旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 的干燥成熟种子。

2 方法与结果

2.1 脂肪油的提取 将不同产地的样品粉碎,过40目筛,取约10g,精密称定,置500mL圆底烧瓶中,加入石油醚70mL,回流提取10h,滤过,减压回收石油醚得总脂肪油。计算得油率,结果浙江,江苏,上海,黑龙江,河北,辽宁,四川,吉林,天津,山东分别为6.7%,20%,16.7%,17.0%,15.6%,9.5%,10.5%,13.3%,15.6%,12.9%。

2.2 溶液制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别取对照品棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯和亚麻酸甲酯适量,精密称定,置10mL量瓶中,用正己烷稀释至刻度,制成质量浓度分别为5.95、5.52、5.48、6.44、4.52 mg/mL的对照品溶液。分别精密吸取棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯和亚麻酸甲酯对照品溶液3、1、2、4、0.4 mL,置同一25mL量瓶中,用正己烷稀释至刻度,得到混合对照品溶液。

2.2.2 内标溶液 精密称取豆蔻酸甲酯适量,置25mL量瓶中,用正己烷溶解并稀释至刻度,制成质量浓度为0.52 mg/mL的内标溶液。

2.2.3 供试品溶液 取脂肪油约100mg,精密称

定,置50mL圆底烧瓶中,加入0.5 mol/L的氢氧化钠甲醇溶液5mL,置60℃水浴回流皂化30min,至油珠全部消失,放冷,加15%三氟化硼乙醚的甲醇溶液2mL,置60℃水浴酯化5min,放冷,精密加入正己烷5mL,超声2min,取出,置于分液漏斗中,加饱和氯化钠溶液10mL,振摇,静置,取上层溶液,加无水硫酸钠干燥,再精密量取干燥后的溶液1mL,置10mL量瓶中,加入内标溶液0.5mL,用正己烷稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 色谱条件与系统适用性试验 DB-Wax 毛细管柱(30m×0.25mm,0.25μm);氢火焰离子化检测器(FID);进样口温度230℃;检测器温度250℃;柱温以170℃为起始温度,以10℃/min升至230℃,保持5min;载气N₂,体积流量1.0mL/min;进样方式为分流进样,分流比15:1;进样量1μL。在上述色谱条件下,理论塔板数按亚油酸计算大于1.0×10⁵,各峰与其相邻色谱峰的分离度均大于1.5,各峰拖尾因子均在0.95~1.05之间。对照品和样品色谱图见图1。

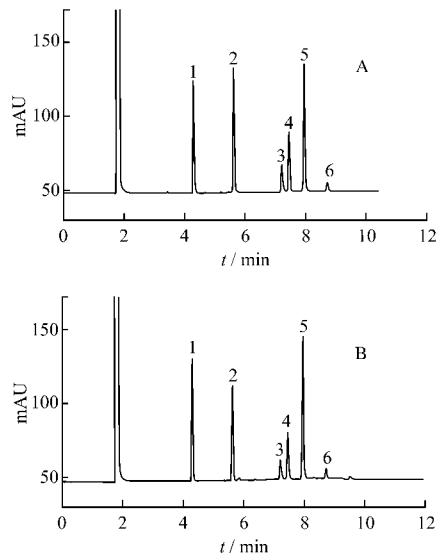


图1 对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance(A) and sample(B)

1. 豆蔻酸甲酯(内标) 2. 棕榈酸甲酯 3. 硬脂酸甲酯 4. 油酸甲酯 5. 亚油酸甲酯 6. 亚麻酸甲酯

1. myristicin acid methylester 2. palmitic acid methyl-ester 3. stearic acid methylester 4. oleic acid 5. linoleic acid methylester 6. linolenic acid methylester

2.4 线性范围考察 分别精密吸取混合对照品溶

液 0.5、1、2、4、6、8 mL 置 10 mL 量瓶中,分别精密加入内标溶液 0.5 mL,用正己烷稀释至刻度,摇匀,在上述色谱条件下测定。以各对照品溶液质量浓度 (X , $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标,以对照品与内标峰面积的比值 (Y) 为纵坐标,绘制标准工作曲线。棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯和亚麻酸甲酯回归曲线方程分别为: $Y = 26.87X + 1.830 \times 10^{-2}$, $r = 0.9996$; $Y = 21.98X + 8.60 \times 10^{-3}$, $r = 0.9996$; $Y = 24.64X + 2.030 \times 10^{-2}$, $r = 0.9998$; $Y = 22.86X + 3.260 \times 10^{-2}$, $r = 0.9997$; $Y = 23.54X + 5.200 \times 10^{-3}$, $r = 0.9994$ 。棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯和亚麻酸甲酯分别在 0.04 ~ 0.57 mg/mL, 0.01 ~ 0.18 mg/mL, 0.02 ~ 0.35 mg/mL, 0.05 ~ 0.82 mg/mL, 0.004 ~ 0.06 mg/mL 范围内,与内标峰面积比值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 取混合对照品溶液在上述色谱条件下连续进样 6 次,以棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯和亚麻酸甲酯与内标峰面积比值计算 RSD,结果分别为 0.9%, 1.1%, 1.4%, 1.0%, 1.5%。

2.6 重复性试验 取同一批号药材(江苏)6份,按 2.1 项及 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸含量的 RSD 分别为 1.3%, 1.6%, 1.5%, 1.6%, 2.0%。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温放置,于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 分别进样分析,计算棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯各时间点峰面积与内标峰面积比值的 RSD 分别为 1.0%, 1.4%, 1.5%, 1.2%, 1.9%。结果表明,供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验 称取已知量的同一批号牵牛子脂肪油(江苏)约 50 mg,共 9 份,按低、中、高浓度分别加入各对照品贮备液,每一浓度 3 份。按照 2.2.3 项下方法操作制备供试溶液,在上述色谱条件下进样,计算回收率,结果见表 1。

2.9 样品测定 取不同产地牵牛子脂肪油约 100 mg,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,并在上述色谱条件下测定,按内标法计算,结果见表 2。

3 讨论

3.1 色谱柱的选择 本研究考察了 DB-47, DB-Wax 3 种不同型号的石英毛细管柱,结果表明 DB-Wax 石英毛细管柱能够使待测脂肪酸组分具有良好的分离和合适的保留时间。

表 1 回收率试验结果 ($n = 9$)

成分	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
棕榈酸	8.53	8.49	98.5	0.9
	9.49	9.32		
	10.43	10.19		
硬脂酸	3.946	3.788	96.4	1.2
	4.384	4.222		
	4.822	4.678		
油酸	7.588	7.398	97.2	1.3
	8.43	8.18		
	9.27	9.014		
亚油酸	22.37	21.99	98.2	1.0
	24.98	24.60		
	27.34	26.77		
亚麻酸	1.971	1.890	95.7	1.8
	2.190	2.083		
	4.301	4.118		

表 2 牵牛子油测定结果 ($n = 3$)

Tab. 2 Determination results of fatty acid in seed of *Pharbitis nil*(L.) Choisy

产地	棕榈酸 / (mg/g)	硬脂酸 / (mg/g)	油酸 / (mg/g)	亚油酸 / (mg/g)	亚麻酸 / (mg/g)
浙江	5.21	2.28	4.95	12.4	1.38
江苏	18.9	8.8	16.9	49.7	4.38
上海	20.8	8.3	17.9	50.4	4.44
黑龙江	24.3	8.9	17.7	53.9	4.51
河北	24.7	7.63	16.9	55.1	4.32
辽宁	9.6	2.97	6.43	15.9	1.67
四川	8.7	2.99	5.35	15.4	1.44
吉林	14.4	4.27	8.8	24.9	1.81
天津	20.9	9.7	15.9	42.6	4.35
山东	10.8	4.10	8.7	25.9	1.77

3.2 柱温的考察 曾尝试 200 °C 恒温测定,结果分析时间较长,且拖尾严重。尝试 170 ~ 230 °C 程序升温的方式,色谱峰分离度好,且峰型良好,因此确定程序升温条件为初始温度 170 °C,以 10 °C/min 升温,升至 230 °C。

3.3 提取方法的考察 研究中以石油醚(60 ~ 90 °C)为提取溶剂,对索氏提取 8 h 和回流提取 8 h,分别进行了考察,结果证明两种方法的提取率差别不大,因此选用较为方便的回流提取法。在此基础上对不同的提取时间(6, 8, 10, 12 h)进行了考察,结果表明提取 10 h 与提取 12 h 牵牛子脂肪油的提取率基本一致,故确定提取时间为 10 h。

本实验对 10 批样品测定的结果表明,不同产地的牵牛子脂肪油中棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸各成分质量分数最低和最高相差 5 倍左右,这可能与生长环境、干燥方法和贮存时间不同有关。

测定结果表明牵牛子脂肪油中亚油酸量最高,占总油的34.6%,亚油酸具有降低血液中胆固醇的浓度,减少胆固醇在血管壁沉积的生理活性^[11-13]。因此,牵牛子脂肪油的药用资源有待于进一步的开发与利用,本研究为牵牛子脂肪油的进一步临床应用价值和质量控制提供了依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 177.
[2] 李澎灏, 陈振德. 牵牛子脂肪油超临界CO₂萃取及气相-质谱测定[J]. 中国药房, 2003, 14(7): 431.
[3] 于双慧, 陈晓辉, 毕开顺. GC法测定莘澄茄中棕榈酸、油酸与亚油酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(9): 1485-1488.
[4] 原思通, 张保献, 黄红生. 气质联用法分析炮制对羌花挥发油的影响[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(10): 595-598.
[5] 田连起, 石延榜, 张本山, 等. 黑丑与白丑炒制前后药理学初步

研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(6): 157.
[6] 陈立娜, 李萍, 张重义, 等. 牵牛子脂肪油类成分分析[J]. 中草药, 2003, 34(11): 983-984.
[7] 李澎灏, 陈振德. 牵牛子脂肪油超临界CO₂萃取及气相-质谱测定[J]. 中国药房, 2003, 14(7): 431-432.
[8] 林文群, 陈忠, 刘剑秋. 牵牛子(黑丑)化学成分初步研究[J]. 福建师范大学学报自然学版, 2002, 18(2): 61-64.
[9] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1998: 3274-3279.
[10] 刘春生, 马泽新, 常立军. 黑丑和白丑的考证[J]. 中药材, 1995, 18(8): 420-421.
[11] Elias P M, Brown B E, Ziboh V A. The permeability barrier in essential fatty acid deficiency: evidence for a direct role for linoleic acid in barrier function[J]. *J Invest Dermatol*, 1980, 74: 230.
[12] 陈银基, 鞠兴荣, 周光宏. 饱和脂肪酸分类与生理功能[J]. 中国油脂, 2008, 33(3): 35-39.
[13] 陈银基, 周光宏, 徐幸莲. n-3多不饱和脂肪酸对疾病的预防与治疗作用[J]. 中国油脂, 2006, 31(9): 31-34.

伪品人工牛黄中染色物质的鉴定

楚亮, 周娟*, 王颖, 伍丕娥, 黎跃成
(四川省食品药品检验所, 四川成都 610097)

摘要: 目的 建立伪品人工牛黄中染色物质鉴定方法。方法 采用TLC法对人工牛黄中非法添加染色物质的种类进行分析,并用HPLC-DAD法对染色物质进行确定,进一步用HPLC-MS法对染色物质进行验证。结果 伪品人工牛黄样品中检出金橙II、金胺O和胭脂红。结论 伪品人工牛黄中掺有化工原料,且掺入的色素对人体有害。

关键词: 人工牛黄; 染料; 金胺O; 金橙II; 胭脂红

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)09-1556-04

Identification of chemical industry dyes in adulteration of *Bovis Calculus artificialis*

CHU Liang, ZHOU Juan, WANG Ying, WU Pi-e, LI Yue-cheng
(Sichuan Provincial Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610097, China)

KEY WORDS: *Bovis Calculus artificialis*; dye; auramine O; orange II; ponceau 4R

人工牛黄收载于中国药典2010年版一部,为批准文号管理,由牛胆粉、胆酸、猪去氧胆酸、牛磺酸、胆红素、胆固醇、微量元素等组成,具有清热、解毒、

化痰、定惊的作用^[1]。由于天然牛黄资源稀缺,价格昂贵^[2],人工牛黄为国内大多数生产含牛黄制剂的厂家广泛使用。当前中药掺伪的现象时有发生,不法分子对一些资源少、价格高的药材通过染色来

收稿日期: 2011-01-28

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2009ZX09308-006-4)

作者简介: 楚亮(1985—),男,硕士生,从事中药新制剂、新剂型、新技术研究。E-mail: Luxor38@163.com

* 通信作者: 周娟,女,主任药师。Tel: (028) 87877143, E-mail: zhoujuan009@163.com