

不同干燥方法、贮藏年限及采收时间对青龙衣中胡桃醌的影响

季宇彬^{1,2}, 陆婉^{1,2}, 曲中原^{1,2}, 邹翔^{1,2}, 严琴琴^{1,2}

(1. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076;

2. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:探讨不同干燥方法(自然阴干、自然晒干、40℃烘干、60℃烘干)、贮藏年限(当年、1年、2年)及采收时间(6、7、8、9月)对青龙衣中胡桃醌量的影响。**方法** 采用HPLC法测定不同干燥方法、贮藏年限及采收时间的青龙衣药材中胡桃醌的量。**结果** 不同干燥方法对青龙衣药材中胡桃醌量有不同的影响,60℃烘干处理后药材中胡桃醌的量显著低于其他的方法($P<0.01$)。青龙衣宜采用阴干或40℃烘干的方法干燥。青龙衣贮藏时间越长,胡桃醌的量越低。青龙衣适宜的采收时间是7~8月份果实未成熟时采收。**结论** 不同干燥方法、贮藏年限及采收时间对青龙衣药材中胡桃醌的量有一定影响。

关键词:青龙衣;干燥;贮藏;采收;胡桃醌

中图分类号:R282.710.2

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2009)02-0110-03

青龙衣为胡桃科核桃属植物胡桃楸 *Juglans mandshurica* Maxim. 和核桃 *J. regia* L. 的未成熟外果皮,辛、苦、涩、平,具有清热解毒、祛风疗癣、止痛止痢的功效,主产于河北、山东、东北等地^[1-2]。现代药理研究表明青龙衣具有明显的抗肿瘤作用,青龙衣注射剂、青龙衣粉针剂、复方青龙衣胶囊等对胃癌、食道癌、肠癌和肝癌等均具有较好的疗效^[3]。胡桃醌是青龙衣中具有明确抗肿瘤作用的活性成分,可作为评价青龙衣药材质量的指标性成分。胡桃醌是小分子萜醌,具有升华性、挥发性,能随水蒸气蒸馏,所以不同的干燥方法和贮藏年限对青龙衣中胡桃醌的量会产生影响^[4]。采收时间也会对胡桃醌的量产生影响。笔者以胡桃醌为指标成分对青龙衣药材进行研究,确定药材最佳干燥方法、贮藏年限及采收时间,以确保青龙衣药材的质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪(717 Plus Autosampler, 600 Controller, 2996 Photodiode Array Detector Empower 色谱工作站);KQ5200DB型超声机(江苏省昆山市超声仪器有限公司);BS110S型电子分析天平(北京塞多利斯天平有限公司);N-1000 旋转蒸发仪(EYELA 上海爱朗仪器有限公司)。

1.2 药品及试剂

青龙衣药材均采于伊春,经鉴定为胡桃科胡桃树属植物胡桃楸 *J. mandshurica* Maxim. 未成熟果实的干燥肉质果皮。胡桃醌对照品(购于天津一方科技有限公司,纯度98%);乙醇、醋酸乙酯均为分析纯,甲醇为色谱纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 不同干燥方法样品的制备

(1)自然晒干:将新鲜的青龙衣药材置阳光下晒干后备用;(2)自然阴干:将新鲜的青龙衣药材放在通风阴凉处阴干后备用;(3)40℃烘干:将新鲜的青龙衣药材放入烘箱中,40℃烘干后备用;(4)60℃烘干:将新鲜的青龙衣药材放入烘箱中,60℃烘干后备用。

2.2 不同贮藏年限样品的采集

分别收集贮藏年限为当年、1年和2年的青龙衣药材,自然阴干备用。

2.3 不同采收时间样品的采集

分别于同年6月15日、7月15日、8月10日从胡桃楸树上采摘青核桃,9月20日振动胡桃楸树枝干,地面收集落果,剥取青核桃外果皮,自然阴干备用。

2.4 测定方法的建立

2.4.1 色谱条件

基金项目 国家自然科学基金项目(30600816);高等学校博士点学科点专项科研基金(20060240001)

作者简介 季宇彬(1956—),男,教授,博士生导师,研究方向:抗肿瘤药物研究。E-mail: jyb@hrbcu.edu.cn, Tel: (0451)84800922

色谱柱为 Diamonsil C₁₈柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(55:45), 水相用磷酸调 pH 值约为 3.5 (磷酸-水, 1:500), 体积流量为 1 mL/min, 检测波长为 250 nm, 柱温为 30℃^[5]。

2.4.2 对照品溶液的制备

精确称取胡桃醌对照品 0.5 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解定容, 摇匀, 即得 50 μg/mL 胡桃醌对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备

将不同干燥方法的样品全部粉碎, 过 40 目筛, 分别准确称取 5 g 药材粉末, 置于 100 mL 烧杯中, 精确加入醋酸乙酯 500 mL, 密封, 冷浸 24 h 后超声 40 min, 滤过, 滤液浓缩, 减压回收溶剂, 得浸膏备用。将所得浸膏分别用甲醇溶解, 转移到 10 mL 量瓶中, 静置。取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过^[6]。

2.4.4 线性关系考察

分别取对照品溶液按 2.4.1 项色谱条件, 进样 0.5、1、2、4、8、16 μL, 以峰面积积分值 (Y) 为纵坐标, 胡桃醌质量 (X) 为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y=69.87X-0.6163$ ($r=0.9999$)。结果表明, 胡桃酯在 0.025~0.8 μg 线性关系良好。

2.4.5 精密度试验

精密吸取供试品溶液, 连续进样, 按 2.4.1 项色谱条件测定胡桃醌的峰面积, RSD 为 0.29% ($n=6$), 表明本实验精密度较好。

2.4.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液, 于 0、2、4、6、8、10 h 进样, 按 2.4.1 项色谱条件测定胡桃醌的峰面积, RSD 为 1.03% ($n=6$), 表明供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

2.4.7 重现性试验

精密称取自然阴干的青龙衣粉末 6 份, 按 2.4.3 项下方法同时制取 6 份样品溶液, 精密吸取样品溶液连续进样, 按 2.4.1 项色谱条件测定胡桃

醌的峰面积, 计算质量分数, 其 RSD 为 0.27%, 表明本实验重现性较好。

2.4.8 回收率试验

取含 0.005% 胡桃醌的青龙衣粉末 10 g, 准确称定, 置于具塞锥形瓶中, 准确加入胡桃醌对照品 0.5 mg, 按 2.4.3 项下方法提取, 提取液浓缩后用甲醇溶解、转移至 100 mL 量瓶中, 加入甲醇定容, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 进样, 测定胡桃醌的量, 计算回收率。结果胡桃醌回收率为 $(98.70 \pm 2.06)\%$, RSD 为 2.09% ($n=6$)。

2.5 实验结果

本实验每组均平行采样 3 批, 实验结果见表 1, 实验所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS 15.0 统计学软件进行方差分析, 并做组间比较。HPLC 色谱图见图 1。

3 讨论

3.1 干燥方法对胡桃醌的影响

本实验对不同干燥方法的青龙衣中胡桃酯的量进行了比较, 结果表明, 在 4 种干燥条件中, 胡桃醌的量为自然阴干>自然晒干>40℃烘干>60℃烘干, 其中 60℃烘干的青龙衣中胡桃醌的量显著低于其他各组, 40℃烘干的青龙衣中胡桃醌的量显著低于自然阴干的, 其他各组无显著差异。笔者推断在 8 月末、9 月初哈尔滨地区室外阳光不是很强烈 (28℃左右), 与室内温度相差不大, 所以自然晒干的青龙衣中胡桃醌的量与自然阴干的和 40℃烘干的量相比差异较小。但是自然晒干的干燥条件视地区而异, 因此青龙衣药材宜采用阴干、40℃烘干或低于 40℃烘干的方法干燥。

3.2 贮藏年限对胡桃醌的影响

本实验对不同贮藏年限的青龙衣中胡桃醌的量也进行了比较, 结果表明不同贮藏年限的青龙衣中胡桃醌的量存在显著差异, 即随着贮藏时间的延长, 青龙衣中的胡桃醌的量逐渐下降。因为胡桃醌不稳定, 随着存放时间的延长其会分解^[7]。因此青龙衣药

表 1 不同处理条件下青龙衣中胡桃醌的测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

干燥方法	胡桃醌/%	贮藏年限	胡桃醌/%	采收时间	胡桃醌/%
自然阴干	0.005 2±0.000 2	当年	0.005 2±0.000 2	6 月	0.004 6±0.000 1
自然晒干	0.004 8±0.000 2	1 年	0.003 8±0.000 1 [△]	7 月	0.005 0±0.000 1 [◇]
40℃烘干	0.004 6±0.000 2 [*]	2 年	0.002 2±0.000 2 ^{△▲}	8 月	0.005 2±0.000 2 [◇]
60℃烘干	0.002 4±0.000 1 ^{*★}			9 月	0.004 2±0.000 1 ^{◇◆}

注: 与自然阴干组比较 ^{*} $P<0.01$; 与自然晒干组比较 [★] $P<0.01$; 与当年组比较 [△] $P<0.01$; 与 1 年组比较 [▲] $P<0.01$; 与 6 月组比较 [◇] $P<0.01$; 与 7 月组比较 [◆] $P<0.01$

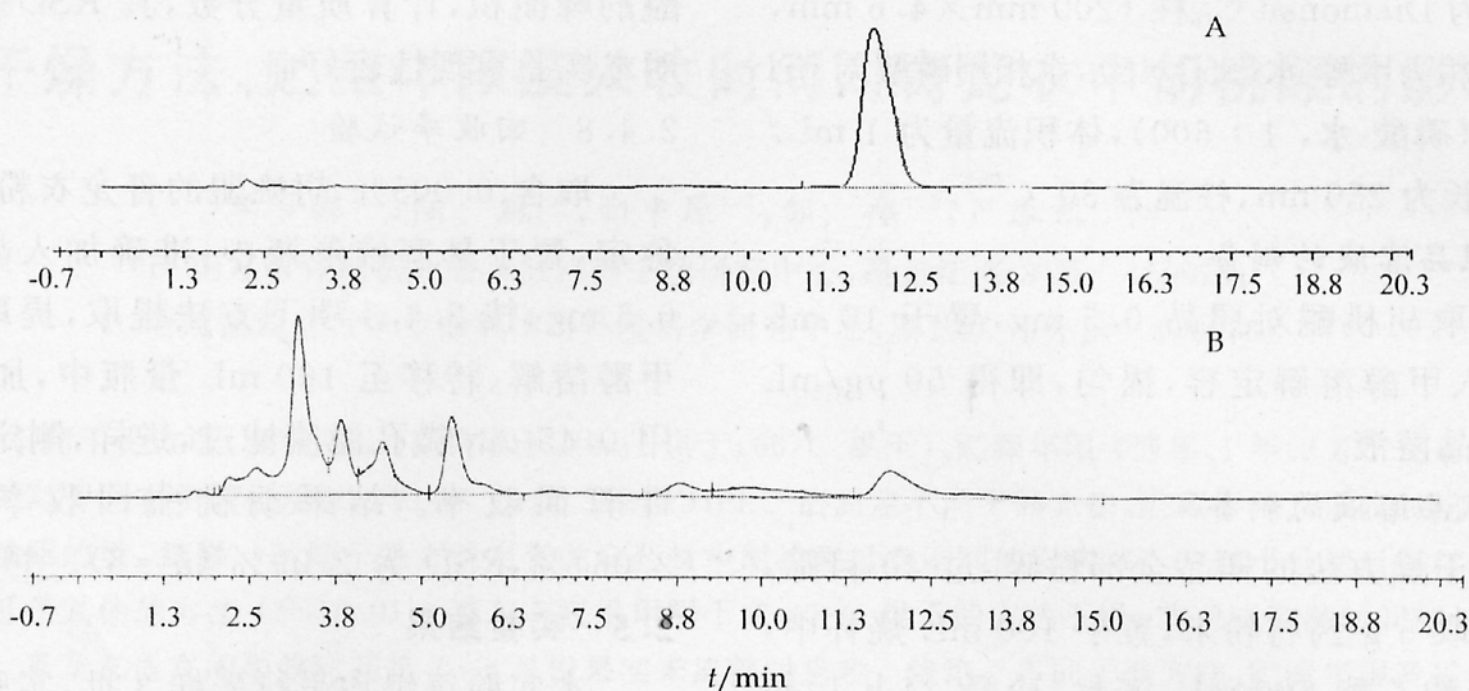


图1 胡桃醌对照品(A)和自然阴干样品(B) HPLC 图

材不易贮藏过长时间,应该尽量应用当年的药材进行临床应用或抗肿瘤实验研究。

3.3 采收时间对胡桃醌的影响

本实验还对不同采收时间的青龙衣中胡桃醌量的影响进行了比较,结果表明,不同采收时间的药材中胡桃醌的量为8月>7月>6月>9月,其中7月与8月采收的药材中胡桃醌的量无显著差异,9月青核桃已逐渐成熟,胡桃醌的量明显下降。因此青龙衣适宜在当年7~8月份果实未成熟时采收。

参考文献

[1] 吴征镒,周太炎,肖培根,等. 新华本草纲目(第三册)[M]. 上

海:上海科学技术出版社,1990.

[2] 江苏新医学院. 中药大辞典(下)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986.

[3] 王绍林,王绍东. 核桃楸青果皮的生药鉴别和抗肿瘤作用研究[J]. 药学实践杂志,1995,13(1): 40-42.

[4] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003.

[5] 索绪斌,高奎滨,张云凌,等. 高效液相色谱法测定青龙衣中胡桃醌含量[J]. 中药材,2003,26(11):793.

[6] 曲中原,邹翔,胡国军,等. 青龙衣中胡桃醌提取工艺研究[J]. 中医药学报,2008,36(4): 30-32.

[7] 李福荣,史卫锋,韩俊芬,等. 不同采摘时期的青龙衣中胡桃醌的含量比较[J]. 中国现代医生,2007,45(2): 6-7.

(收稿日期 2008-12-10)

欢迎订阅《中草药》杂志 1996—2008 年增刊

为了扩大学术交流,提高新药研究水平,经国家新闻出版主管部门批准,我部从1996年起,每年出版增刊一册。

1996~2008 年增刊 包括中药创新药物开发的思路和方法、中药现代化研究、中药知识产权保护、中药专利的申请及中药走向国际等热点内容。

以上各卷增刊选题广泛、内容新颖、学术水平高、科学性强,欢迎广大读者订阅。以上增刊为我部自办发行,邮局订阅《中草药》不含增刊,但能提供订阅凭证者,购买增刊7折优惠,款到寄刊。

地址:天津市南开区鞍山西道308号

邮编:300193

网 址:www.tjipr.com

电话:(022)27474913 23006821

传真:(022)23006821

E-mail:zcyzzbjb@sina.com

《现代药物与临床》杂志被确认为允许刊载 处方药广告的第一批医药专业媒体

根据国家食品药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知,《现代药物与临床》杂志作为第一批医药专业媒体,允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话:(022) 23006823

邮箱:modernpharm@163.com

联系人:李红珠