

酸积累起主导作用还需进行更细致和深入研究。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol. 1. 2005.
- [2] Fu Y J. *The Chinese Licorice* (中国甘草) [M]. Beijing/New York: Science Press, 2004: 2-18.
- [3] Peng L, Hu Z H. Research progresses on biology and chemistry of licorice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(11): 1744-1747.
- [4] Zhao Z H, Zu Y G. *Study on the Life Cycle of Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (乌拉尔甘草生活史型研究) [M]. Beijing: Science Press, 2005, 3: 99-105.
- [5] Du L N, Zhang C L, Zhu W, et al. The synthetic way and biological significance of plant secondary metabolism [J]. *J Northwest Forest Univ* (西北林学院学报), 2005, 20(3): 150-155.
- [6] Cao Y F, Wang T X, Hu Z H. Studies on the dynamic trends of diosgenin content in vegetative organs of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Acta Biol Exp Sin* (实验生物学报), 2004, 37(3): 221-225.
- [7] Liu S B, Lin R, Hu Z H. Histochemical localization of ginsenosides in *Gynostemma pentaphyllum* and content changes of total gypenosides [J]. *Acta Biol Exp Sin* (实验生物学报), 2005, 38(1): 54-57.
- [8] Su W H, Zhang G F, Li X H, et al. Relationship between accumulation of secondary metabolism in medicinal plant and environmental condition [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(9): 1415-1418.
- [9] Mi H L, Xu X, Li S H, et al. Dynamic change of the contents, distributions and ratios of carbohydrate and total nitrogen in *Cynanchum komarovii* and *Glycyrrhiza uralensis* during the different periods of growth [J]. *Agric Res Arid Areas* (干旱区农业研究), 2005, 23(1): 130-133.
- [10] Zhang K J, Dong J E. *Secondary Metabolism in Medicinal Plant* (药用植物次生代谢) [M]. Xi'an Northwest University Publishing House, 2001.
- [11] Liao J X, Wang G X. The function of glycyrrhizic acid to adapt arid environment [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 2003, 39(4): 367-370.

RP-HPLC 法测定甘草废渣及不同产地甘草中甘草查耳酮 A

杨琳^{2,1}, 车庆明^{1*}, 孙启时²

(1. 北京大学医学部药学院, 北京 100083; 2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根及根茎。具有补脾益气、祛痰止咳、清热解毒、缓急止痛、调和诸药之功效, 素有“国佬”之称。甘草的化学和药理学研究表明, 甘草酸和甘草黄酮类成分是其主要的有效成分, 其中黄酮类成分具有显著的抗溃疡、抗肿瘤、抗氧化、抑菌、抗炎、降血脂、镇痛等药理活性, 同时还被广泛用于食品添加剂及化妆品领域^[1,2]。长期以来, 工业化生产只对甘草中的甘草酸作为主要有效成分进行提取, 提取甘草酸后的甘草药渣则被当作废渣遗弃, 造成了环境污染和资源浪费。为了更加合理地利用有限的甘草资源, 笔者对工业提取甘草酸后的甘草废渣进行了系统的化学研究, 从中分离得到了以甘草查耳酮 A 为主要成分的多种黄酮类化合物。文献报道^[3], 甘草查耳酮 A 有抑制肿瘤发生、抗病原微生物、抑制杜氏利什曼原虫和硕大利什曼原虫的前鞭毛体和无鞭毛体的生长等作用, 体外对革兰氏阳性球菌、杆菌和棒型菌有明显的抑制作用。目前, 有关甘草废渣中甘草查耳酮 A 的定量测定尚未见报道。

本实验首次采用 RP-HPLC 法对甘草废渣及其相关药材中甘草查耳酮 A 的量进行了比较, 以期对甘草废渣的回收利用提供依据。本方法简便, 快速, 灵敏度高, 适合常规分析。

1 仪器与药品

Agilent 1100 型高效液相色谱仪; G1365B MWD 型紫外检测器; G1311A 四元泵; G1316A 柱箱; Agilent 1100 型数据处理系统; 旋转蒸发器 (上海申生科技有限公司)。

甘草药材经由沈阳药科大学孙启时教授鉴定, 新疆产甘草为胀果甘草 *G. inflata* Bat., 内蒙产甘草为甘草 *G. uralensis* Fisch.。

甲醇 (色谱纯、分析纯)、四氢呋喃 (色谱纯)、冰醋酸 (分析纯)、去离子水, 甘草查耳酮 A 自制, 由甘草废渣中分离得到, 经光谱、色谱法鉴定, 质量分数 > 98%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Bischoff C₁₈ (150 mm × 2.0 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 甲醇-四氢呋喃-1% 醋酸的水溶液 (46 : 10 : 44); 检测波长: 377 nm; 体

收稿日期: 2006-03-14

作者简介: 车庆明 (1958—), 男, 教授, 主要从事中药化学及其成分的药理代谢研究。Tel: (010) 82802468

* 通讯作者

积流量:0.3 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:5 μ L。

2.2 专属性试验:取甘草查耳酮 A 对照品、甘草废渣及甘草药材样品的甲醇溶液,按上述色谱条件处理,色谱图见图 1。由图可见,在选定的色谱条件下甘草查耳酮 A 与其他成分分离效果良好。

2.3 标准曲线制备:精密称取甘草查耳酮 A 对照品 10.0 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。精密吸取 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过 0.45 μ m 微孔滤膜,取续滤液作为对照品溶液。精密吸取 5 μ L,注入液相色谱仪,测定,以吸收峰面积为纵坐标(Y),质量浓度(μ g/mL)为横坐标(X),绘制标准曲线,甘草查耳酮 A 在 1~32 μ g/mL 与峰面积呈良好线性关系。标准曲线方程为: $Y=186.37X+15.262, r=0.9997$ 。

2.4 供试品溶液的制备:精密称取甘草废渣样品及药材样品各 1.0 g,分别置索氏提取器中,加甲醇 150 mL,回流提取至无色,滤过,加 10 mL 甲醇洗涤

滤渣及容器,合并滤液及洗液,浓缩,浓缩液定量转移至 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过 0.45 μ m 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.5 精密度试验:精密吸取同一份供试品溶液 5 μ L,重复进样 5 次,测定峰面积,其 RSD 为 1.8%。

2.6 稳定性试验:取同一份供试品溶液,分别于制备后 0、3、6、9、12 h 进样测定,每次进样 5 μ L,测定峰面积,结果其 RSD 为 2.0%,样品在 12 h 内稳定。

2.7 重现性试验:精密称取同一样品 5 份,按供试品溶液制备项下方法平行制备,进样测定,计算,结果 RSD 为 2.6%。

2.8 回收率试验:精密称取同一样品 1.0 g,分别精密加入甘草查耳酮 A 对照品 2.55、3.40、5.10 mg,按 2.3 项下方法处理,进样测定,计算,平均回收率为 95.7%,RSD 为 0.7% ($n=3$)。

2.9 样品测定:精密吸取各供试品溶液 5 μ L,注入液相色谱仪测定,计算,色谱图见图 1,结果见表 1。

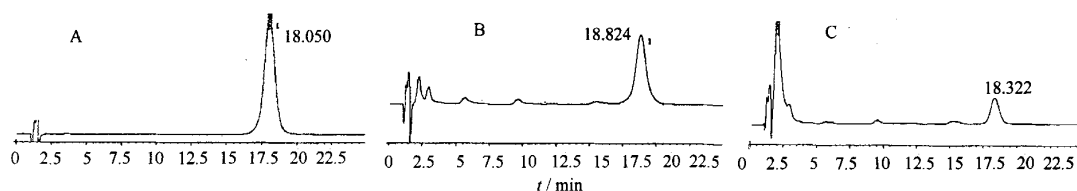


图 1 甘草查耳酮 A (A),甘草废渣样品(B)和新疆样品(C)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of licochalcone A (A), *G. uralensis* residue (B), and sample from Xinjiang

表 1 样品中甘草查耳酮 A 的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of licochalcone A in samples ($n=3$)

样品号	样 品	甘草查耳酮 A/(mg·g ⁻¹)
1	低温废渣	3.44
2	低温废渣	3.63
3	高温废渣	5.28
4	高温废渣	4.34
5	新疆甘草	1.85
6	内蒙古甘草	未检出

3 讨论

本实验对甘草查耳酮 A 的提取方法进行了考察,比较了超声提取、回流提取及索氏提取的差异,最终采用了提取比较完全的索氏提取法进行提取。根据文献,考察了乙腈-1% 冰醋酸水溶液、甲醇-1% 冰醋酸水溶液作流动相对甘草查耳酮 A 的分离效果,结果样品中甘草查耳酮 A 均未达到满意分离,而加入四氢呋喃后,甘草查耳酮 A 与其他成分达到基线分离,而且保留时间缩短,故而采用了甲醇-四氢呋喃-1% 冰醋酸水溶液(46:10:44)作

为流动相。根据甘草查耳酮 A 的紫外吸收性质,考察了 254、377 nm 检测波长下对甘草查耳酮 A 的分离效果,选用了紫外吸收响应值高、杂质干扰小的 377 nm 作为检测波长。

研究结果显示,甘草废渣中甘草查耳酮 A 的量远高于原药材中甘草查耳酮 A 的量,高温提取甘草酸后的甘草废渣比低温提取甘草酸后的甘草废渣中甘草查耳酮 A 的量更高。这可能与工业上甘草酸的提取过程有关。工业上甘草酸的提取采用的是水提取法,药材中的水溶性成分被大量提取出去,而甘草查耳酮 A 在水中的溶解度很小,在此过程中几乎不能被提取出来,故而甘草废渣中甘草查耳酮 A 的量相对比原药材中高。另据文献报道^[4],在甘草的工业提取过程中,甘草酸的提取率随提取温度的升高而提高,这就使得高温提取甘草酸后的甘草废渣比低温提取甘草酸后的甘草废渣中水溶性成分的量更少,故而高温甘草废渣比低温甘草废渣中甘草查耳酮 A 的量更高。在试验中,内蒙古产的甘草药材中甘草查耳酮

A 没能检测到,这与甘草的种类有关^[5]。

本实验建立了甘草废渣及甘草药材中甘草查耳酮 A 的定量方法,测定了不同甘草废渣样品中甘草查耳酮 A 的量,为甘草废渣的回收再利用提供了科学的依据。

References:

- [1] Zhou J H, Wu W P, Sun W J. Progress in studies of flavonoid compounds of licorice [J]. *Drug Stand of China* (中国药品标准), 2004, 5(1): 10-13.

- [2] Wang B, Li H T, Miao M, et al. Extract technology of glycyrrhiza flavonoids from licorice [J]. *J Zhengzhou Inst Technol* (郑州工程学院学报), 2004, 25(3): 61-63.
- [3] Gao H X, Shao S H, Wang G Q. Developmet of the Chinese Licorice [J]. *J Jinggangshan Med Coll* (井冈山医学学报), 2004, 11(5): 8-11.
- [4] Wang X L, Chang Y, Chang Y H. Study of extracting technics of glycyrrhizic acid [J]. *Appl Sci Technol* (应用科技), 2001, 28(12): 46-48.
- [5] Zeng L, Lou Z C, Zhang R Y. Quality evaluation of Chinese licorice [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1991, 26(10): 788-793.

RP-HPLC 法测定云南柃栎树皮中白杨素

台海川

(西双版纳州食品药品检验所,云南 景洪 666100)

柃栎树皮是蔷薇科植物云南柃栎 *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. 的茎皮^[1],性味酸涩、凉,有消炎、收敛、接骨之功效,在西双版纳傣医中常作为治疗烧烫伤、骨折之药用。云南柃栎树皮中含有多种黄酮类化合物^[2],白杨素是其主要组成成分,目前还没有文献报道对云南柃栎树皮中的白杨素进行定量测定。本实验采用 HPLC 法测定其中白杨素的量,并考察了方法学。试验结果表明,该法专属强、准确性高。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC—10ATvp 高效液相色谱仪,日本岛津 SIL—10Avp 自动进样器,日本岛津 SPD—10Avp 紫外检测器,日本岛津 Class—VP 6.12 工作站;岛津 UV—2401PC 紫外可见分光光度计;YB—Z 真空恒温干燥箱(天津药典标准仪器厂)。

白杨素对照品(美国进口,上海中标君达有限公司分装,质量分数为 99.26%,批号:20060602)。乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。云南柃栎树皮药材由西双版纳州民族医药研究所提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性考察:色谱柱为 Shim-pack C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5.0 μm);流动相:乙腈-0.4% 磷酸(35:65);体积流量:1 mL/min;检测波长:269 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL;理论板数以白杨素峰计大于 6 000;白杨素峰与最近峰的分

分离度大于 1.5。色谱图见图 1。

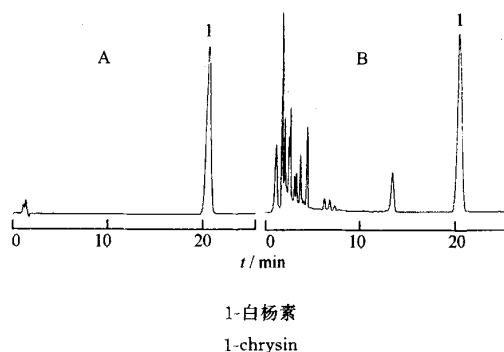


图 1 对照品(A)和样品(B)的色谱图

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

2.2 对照品溶液的制备:精密称取经 40 ℃、24 h 真空恒温五氧化二磷干燥的白杨素对照品适量,用甲醇制成 604.8 μg/mL 的对照品储备液。取对照品储备液 5 mL 置于 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制得 60.48 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取本品粉末 0.5 g,置回流瓶中,加甲醇 50 mL,超声 30 min,放置过夜,再超声 5 min,加 25% 盐酸溶液 5 mL,回流 60 min,放冷,转移至 100 mL 量瓶中,并加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取滤液作样品溶液。

2.4 线性关系考察:取对照品储备液适量,加甲醇配制得 0.604 8、6.048、24.19、60.48、121.0、

收稿日期:2006-03-31

作者简介:台海川(1972—),男,云南景洪市人,云南省西双版纳州食品药品检验所,执业药师、主管药师,1992 年云南大学化学系毕业,主要从事药品检验、药品质量控制和民族植物药研究。

Tel: (0691) 2161335 Fax: (0691) 2160404 E-mail: thch66@126.com, Thch@bn.yn.cninfo.net