

三白草的质量标准研究

陈宏降,李 祥,陈建伟,张 婕

(南京中医药大学药学院,江苏 南京 210046)

摘 要:目的 以三白草酮和里卡灵 A 为指标,建立三白草质量标准。方法 采用薄层色谱法(TLC)为定性鉴别方法;HPLC 法测定其中三白草酮和里卡灵 A 量。结果 三白草酮在80.32~803.2 ng 呈良好的线性关系: $Y = 25\,668 X + 19\,71$, $R^2 = 0.999\,9$;里卡灵 A 在40.24~402.4 ng 呈良好的线性关系: $Y = 57\,825 X + 42\,35$, $R^2 = 0.999\,5$ 。三白草酮平均回收率为100.8%,RSD为2.13%;里卡灵 A 平均回收率为100.5%,RSD为2.57%。

结论 建立的方法简便、准确、可靠,可作为三白草质量控制方法。

关键词:三白草;质量标准;三白草酮;里卡灵 A;高效液相色谱

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)06-0997-03

三白草系三白草科三白草属植物三白草 *Saururus chinensis* (Lour.) Baill. 的干燥地上部分^[1]。具有清热解毒、利水消肿之功效,主要用于治疗尿路感染、尿结石、肾炎水肿、白带过多、支气管炎等症,外敷治疗痈疮疥肿和皮肤湿疹。现代研究表明其有显著的降血糖作用,同时在韩国、朝鲜等也作为民间常用药物,用于治疗水肿、黄疸、淋病等,且从三白草全草及根茎中分离得到多个具有抗炎、抗氧化、保肝、抑制中枢神经作用等多种药理活性的木脂素类成分^[2~4]。

《中国药典》2005年版中三白草仅以性状、对照药材薄层鉴别、检查项和醇溶性浸出物进行质量控制,缺乏定量测定项,难以有效地控制药材质量,保证临床疗效。本课题组在对三白草的化学成分研究的基础上分离得到两个质量分数高、专属性强且具有抗炎、抗氧化、保肝等多种药理活性的木脂素类成分^[5~13]——三白草酮(sauchinone)、里卡灵 A(licarin A),同时文献研究表明三白草酮仅从三白草中分离得到。因此,三白草酮、里卡灵 A 可作为三白草质量控制的指标性成分,本实验采用 TLC 法和 HPLC 法对三白草药材进行质量标准研究,以便对三白草的质量控制提供科学依据,更好地保证其临床疗效。

1 仪器与试药

Agilent 1200 高效液相色谱仪, G1315D 型 DAD 检测器, KQ-250B 型超声波清洗器,三白草酮、里卡灵 A 自行从三白草中分离得到(HPLC 面积归一化测定质量分数大于98%),硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂),甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂为分析纯。三白草由不同产地购入,对照药材由南京中医药

大学标本馆提供,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为三白草 *Saururus chinensis* (Lour.) Baill. 的干燥地上部分。

2 薄层色谱鉴别

取各批三白草药材粉末2 g,加甲醇30 mL,超声40 min,滤过,滤液浓缩至约2 mL,分别加于活性炭-氧化铝柱(0.2 g,4 g)上,干法装柱,湿法上样,用甲醇60 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加醋酸乙酯2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取三白草对照药材2 g,同法制成对照药材溶液。另取三白草酮和里卡灵 A 对照品,加醋酸乙酯制成1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述对照品溶液5 μ L,对照药材溶液、供试品溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-丙酮(5:2)为展开剂,展开,取出,晾干,10%硫酸乙醇显色。供试品色谱中,在与三白草酮、里卡灵 A 对照品和三白草对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。见图1。

3 HPLC 测定

3.1 色谱条件及系统适应性:色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm,5 μ m);流动相为甲醇-水(63:37),检测波长为230 nm;体积流量为0.8 mL/min;柱温为30 $^{\circ}$ C;理论塔板数按三白草酮计算应不低于4 000。色谱图见图2。

3.2 对照品溶液的制备:分别精密称取三白草酮、里卡灵 A 对照品10 mg 置50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

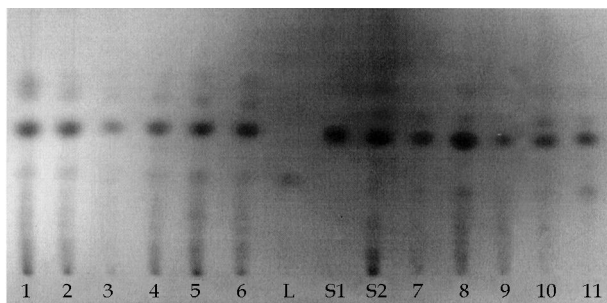
3.3 供试品溶液的制备:取本品粉末(过四号筛)约0.5 g,精密称定,精密加入甲醇25 mL,称定质量,

收稿日期:2009-09-12

基金项目:中国药典委员会项目(YS-136, YS-137)

作者简介:陈宏降(1983—),男,硕士在读,研究方向为中药及复方的质量控制。E-mail:chhj1228@163.com

*通讯作者 李 祥 E-mail:lixiang_8182@163.com



1~11-为购自于不同产地的三白草药材 L-里卡灵 A

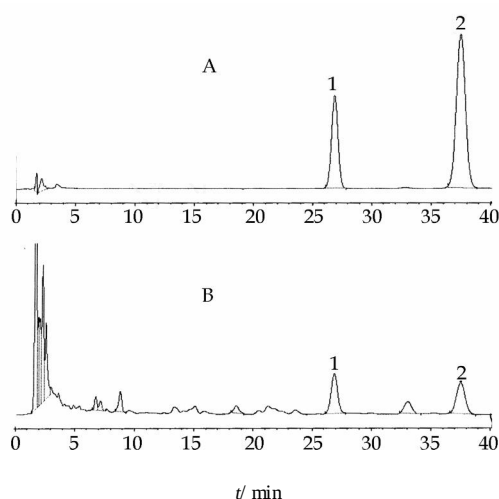
S₁-三白草酮 S₂-三白草对照药材

1-11-samples obtained from various habitats L-licarin A

S₁-sauchinone S₂-control medicine

图1 三白草的 TLC 图谱

Fig 1 TLC Chromatogram of *S. chinensis*



1-三白草酮 2-里卡灵 A

1-sauchinone 2-licarin A

图2 对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig 2 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and samples (B)

浸泡 30 min,超声 40 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.4 标准曲线的制备:分别精密吸取三白草酮对照品溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、4.0 mL,里卡灵 A 对照品溶液 0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,分别进样 10 μ L。结果三白草酮在 80.32~803.2 ng 呈良好的线性关系: $Y = 25\,668 X + 19.71$, $R^2 = 0.999\,9$;里卡灵 A 在 40.24~402.4 ng 呈良好的线性关系: $Y = 57\,825 X + 42.35$, $R^2 = 0.999\,5$ 。

3.5 精密度试验:取同一份供试品溶液(产地:安徽 080926),重复进样 6 次,三白草酮峰面积值 RSD 为 0.515%,里卡灵 A 峰面积值 RSD 为 0.938%。

3.6 稳定性试验:取供试品溶液(产地:安徽 081201)分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,三白草酮峰面积值 RSD 为 2.80%,里卡灵 A 峰面积值 RSD 为 1.53%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.7 重现性试验:对同一批三白草药材(产地:安徽 081201)平行制备 6 份供试品溶液,精密进样 10 μ L,三白草酮质量分数的 RSD 为 2.910%,里卡灵 A 质量分数的 RSD 为 2.819%。

3.8 加样回收率试验:精密称取三白草粉末(产地:安徽 081201)约 0.25 g,共 6 份,每份按一定比例加入对照品溶液,按 3.3 项下进行样品制备并测定,计算回收率。三白草酮平均回收率为 100.8%,RSD 为 2.13%;里卡灵 A 平均回收率为 100.5%,RSD 为 2.57%。

3.9 样品的测定:按 3.3 项,对各产地三白草药材进样测定,每批平行测定两份,测定结果见表 1。

4 讨论

4.1 薄层色谱鉴别:用甲醇作为提取溶剂较 2005

表 1 三白草各产地样品测定结果(n=2)

Table 1 Detemination of *S. chinensis* from different habitats (n=2)

产地及批号	来源	三白草酮/ %	里卡灵 A/ %
湖北 080822	浙江中医药大学饮片厂	0.159 $\pm$ 0.003	0.017 4 $\pm$ 0.000 1
浙江 080821	浙江中医药大学饮片厂	0.309 $\pm$ 0.000	0.017 8 $\pm$ 0.001 1
江苏 080610	中国药科大学植物园	0.429 $\pm$ 0.005	0.026 2 $\pm$ 0.000 2
河北 081127	河北安国京兴药业	0.123 $\pm$ 0.002	0.014 9 $\pm$ 0.000 6
安徽 081127	安徽谯城药业	0.157 $\pm$ 0.005	0.066 2 $\pm$ 0.002 8
安徽 081201	亳州市华申药业	0.183 $\pm$ 0.005	0.086 0 $\pm$ 0.003 7
河南 081129	亳州市华申药业	0.125 $\pm$ 0.002	0.101 0 $\pm$ 0.001 4
湖北 081130	亳州市华申药业	0.073 $\pm$ 0.004	0.020 8 $\pm$ 0.001 3
湖北 061213	亳州市中药饮片厂	0.270 $\pm$ 0.008	未检出
江苏 812114	南京正草堂药业	0.093 $\pm$ 0.008	0.061 2 $\pm$ 0.002 4
江苏 080910	中国药科大学植物园	0.178 $\pm$ 0.003	0.013 8 $\pm$ 0.000 9

年版《中国药典》中的乙醇好,超声法较回流法好。除色素前在三白草酮稍下方有显红色荧光的色素干扰,硫酸乙醇显色后显黄绿色,因此,采用活性炭、氧

化铝柱对其进行除色素,经除色素后的供试品不再有干扰,分离效果较好。

4.2 检测波长的确定:三白草酮在 245、298 nm 处

有最大吸收,里卡灵 A 在 275 nm 处有最大吸收,两者没有共同的最大吸收波长,根据对照品的紫外光谱图及供试品的 3D 图确定检测波长为 230 nm。

4.3 流动相的选择:由于三白草酮、里卡灵 A 结构中几乎不含酸性基团,故没有考察 pH 值对分离效果的影响。在不加酸的条件下,三白草酮、里卡灵 A 色谱峰的对称性均较好,所以只考察了甲醇-水、乙腈-水两种洗脱系统。两种系统分离效果、出峰顺序、峰形无显著差别,考虑到乙腈的价格及毒性,所以选择了甲醇-水系统。

4.4 系统适应性考察:考察了 Agilent TC-C₁₈ 柱(250 mm ×4.6 mm, 5 μm), Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm ×4.6 mm, 5 μm), Hanbon Lichrospher C₁₈ 柱(250 mm ×4.6 mm, 5 μm) 3 根不同型号色谱柱,甲醇-水(63:37)、(65:35)、(60:40) 3 种不同比例流动相, 25、30、35 3 种不同柱温,结果两者均达到基线分离,表明系统适应性良好。

4.5 本实验建立的方法简便易行,能够准确、科学地评价三白草药材的质量。从多数样品的测定结果看,不同产地和批次的药材差异较大,这可能与采收期有关。本课题组分别于 2008 年 6 月 10 日, 9 月 10 日同采于中国药科大学的两批三白草中,三白草酮和里卡灵 A 的量相差两倍以上,表明不同采收期成分量相差较大。《中国药典》2005 年版对三白草没有明确的采收期,三白草为多年生草本,生长期会枯萎,叶片脱落,这势必会影响药材中主要成分的量,从而影响其质量。应开展采收期相关研究,明确规定其采收期。

4.6 样品测定中,药材(湖北 081130)未能测出里卡灵 A, TLC 鉴别也未见其斑点。同时在测定总灰分时发现该批药材灰分呈绿色(其他药材灰分呈灰白色),提示该批药材可能已经变质,这也从一侧面反应了开展三白草存储、有效期等相关研究的重要性。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 2005.
- [2] Sung S H, Huh M S, Kim Y C. New tetrahydrofuran-type sesquiterpenes of *Saururus chinensis* root [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(9): 1192-1194.
- [3] Moon T C, Seo C S, Haa K, et al. Meso-dihydroguaiaretic acid isolated from *Saururus chinensis*, inhibits cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase in mouse bone marrow-derived mast cells [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(5): 606-610.
- [4] 马敏,阮金兰, Koppaka V R. 三白草的化学成分研究() [J]. *中草药*, 2001, 32(1): 9-11.
- [5] Hwang B Y, Lee J H, Jung H S, et al. Sauchinone, a lignan from *Saururus chinensis*, suppresses iNOS expression through the inhibition of transactivation activity of NF-κB [J]. *Planta Med*, 2003, 69: 1096-1101.
- [6] Lee A K, Sung S H, Kim Y C, et al. Inhibition of lipopolysaccharide inducible nitric oxide synthase, TNF-α and COX-2 expression by sauchinone effects on I-κBα phosphorylation, C/EBP and AP-1 activation [J]. *Br J Pharmacol*, 2003 (139): 11-20.
- [7] Sung S H, Lee E J, Cho J H, et al. Sauchinone, a lignan from *Saururus chinensis*, Attenuates CCL₄-induced toxicity in primary cultures of rat hepatocytes [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 23(5): 666-668.
- [8] Sung S H, Kim Y C. Hepatoprotective diastereomeric lignans from *Saururus chinensis* herbs [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63: 1019.
- [9] Song H, Kim Y C, Moon A. Sauchinone, a lignan from *Saururus chinensis*, inhibits staurosporine-induced apoptosis in C6 rat Glioma cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(10): 1428-1430.
- [10] Seo C S, Lee Y K, Kim Y J, et al. Protective effect of lignans against sepsis from the roots of *Saururus chinensis* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(3): 523-526.
- [11] Lee M K, Yang H, Ma C J, et al. Meso-dihydroguaiaretic acid and licarin A of *Machilus thunbergii* protect against glutamate-induced toxicity in primary cultures of a rat cortical cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(4): 814-817.
- [12] Park B Y, Min B S, Kwon O K, et al. Increase of caspase-3 activity by lignans from *Machilus thunbergii* in HL-60 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(8): 1305-1307.
- [13] Leel J S, Kim J W, Yu Y U, et al. Inhibition of phospholipase C γ 1 and cancer cell proliferation by lignans and flavans from *Machilus thunbergii* [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(10): 1043-1047.

《中草药》杂志列中文核心期刊中国医学类第一位

中国医学类核心期刊表

序号	刊名	序号	刊名
1	中草药	11	针刺研究
2	中国中药杂志	12	中药新药与临床药理
3	中国中西医结合杂志	13	南京中医药大学学报
4	中国针灸	14	中国实验药理学杂志
5	中成药	15	辽宁中医杂志
6	北京中医药大学学报	16	时珍国医国药
7	中药材	17	中医杂志
8	中国中医基础医学杂志	18	新中医
9	中药药理与临床	19	中国中西医结合急救杂志
10	中华中医药杂志	20	中国天然药物

摘自《中文核心期刊要目总览》2008 年版(第五版)