

蜜炙酸枣仁中斯皮诺素含量测定

隋利强¹ 王 建² 黄礼书¹ 陈喆明¹

(1 福建中医药大学,福州,350122; 2 济宁市食品药品检验检测中心,济宁,272025)

摘要 目的:以高效液相色谱法测定蜜炙酸枣仁中斯皮诺素的含量。方法:采用反相高效液相色谱法,以 WondaCract ODS-2(250 mm×4.6 mm,5 μm)为色谱柱,乙腈-水为流动相,检测波长 335 nm,流速 1 mL/min,柱温 30 ℃。结果:斯皮诺素的线性范围 0.005~0.3 mg/mL, $r=0.9965$,平均回收率为 99.74%, $RSD=1.46\%$ 。结论:该方法准确、重现性好,可为蜜炙酸枣仁的炮制工艺研究及质量控制提供检测标准。

关键词 高效液相色谱法;蜜炙酸枣仁;斯皮诺素

Determination of Spinosin in Honey-fried Semen Zizyphi Spinosae

Sui Liqiang¹, Wang Jian², Huang Lishu³, Chen Zheming³

(1 Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2 JiNing Center for Food and Drug Control, JiNing 272025, China; 3 Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

Abstract Objective: To determine the content of Spinosin in Honey-fried Semen Zizyphi Spinosae (Mizhi Suanzaoren) by HPLC (High Performance Liquid Chromatography). **Methods:** The experiment was conducted in the condition of WondaCract ODS-2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), mobile phase is acetonitrile-water, detection wavelength 335 nm, and flow velocity 1 mL/min, column temperature 30 ℃, using RP-HPLC. **Results:** The linearity range of Spinosin is 0.005~0.3 mg/mL, $r=0.9965$, average recovery rate is 99.74%, $RSD=1.46\%$. **Conclusion:** This method is accurate with great reproducibility. It can offer testing standards for processing study and quality control of Honey-fried Semen Zizyphi Spinosae.

Key Words HPLC; Honey-fried Semen Zizyphi Spinosae; Spinosin

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.06.040

酸枣仁为鼠李科 *Rhamnaceae* 植物酸枣的种子,是临床应用较为广泛的中药,具有养肝、宁心安神、生津、敛汗的功效,临床主要用于治疗失眠、心脾气血两虚,脾不统血证与治阴亏内热,心神不宁证,临床常用于治疗虚烦不眠^[1-2]。

有关酸枣仁炮制方法的记载,最早见于南齐《刘涓子鬼遗方》,记载方法为炒法。历代炮制方法包括蒸法、酒浸法、姜汁炒等。2015 版《中华人民共和国药典》中收载酸枣仁、炒酸枣仁。除此之外,福建省临床常用蜜枣仁,初步调研,福州同春药业有限公司供应的酸枣仁有酸枣仁、炒酸枣仁、蜜枣仁 3 种炮制品,近些年蜜枣仁销售量接近炒酸枣仁,说明蜜枣仁在福建省用的比较普遍,是地方习惯用药。该饮片用药历史悠久,收载于《福建省中药饮片炮制规范》^[3]。

实践证明,酸枣仁蜜炙后不但可增强益阴敛汗作用,而且利于贮藏。研究显示,酸枣仁、炒酸枣仁、蜜枣仁 3 种炮制品在相同条件下贮藏 12 个月,蜜枣

仁颜色、光泽、气味、霉变、虫蛀等 5 个方面均优于酸枣仁和炒酸枣仁。初步分析,酸枣仁经炼蜜炮制后,蜂蜜易渗入酸枣仁内部组织,降低酸枣仁的含水量,使酸枣仁不易吸潮霉变,颜色鲜艳,光泽度好,易于贮藏。此外,蜂蜜含有较丰富的营养成分,如葡萄糖、果糖、蔗糖、有机酸、维生素及无机盐类等,具滋补作用,味甜能矫味,并具有润肺止咳、润肠通便、解毒的作用,所以酸枣仁蜜炙后可增强益阴敛汗作用。另外,蜂蜜中含有大量还原糖,能防止药材有效成分的氧化变质^[4]。

现代研究表明酸枣仁含酸枣仁皂苷、三萜化合物等,具有镇静、催眠、安神的作用。此外,2015 年版《中华人民共和国药典》中所规定的酸枣仁质量标准中还包括斯皮诺素,该成分是酸枣仁中起效成分和质控成分。所以本研究以斯皮诺素为标准品,用高效液相色谱法测定了蜜炙酸枣仁中该成分的含量,旨在为蜜炙酸枣仁中斯皮诺素的含量测定及质量控制提供检测标准^[5]。

基金项目:福建省自然科学基金面上项目——基于特征成分“安神”增效的“蜜枣仁”炮制原理研究(编号:2016J01386);福建中医药大学校管重点学科专项课题——福州特色饮片“蜜枣仁”炮制工艺规范化研究(编号:X2014106-学科)

通信作者:隋利强(1981.05—),男,研究生,讲师,研究方向:中药炮制原理与炮制工艺研究,E-mail:suilqiang007@163.com

1 仪器与试剂

电子天平(梅特勒-托利多称重设备有限公司, XS105 型);电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司, 京制 00000246);高效液相色谱仪(戴安, U3000 型)。

甲醇(20141218, 国药集团化学试剂有限公司);乙腈(20140321, 国药集团化学试剂有限公司);酸枣仁(20141107, 陇西聚堂中药材实业有限公司);斯皮诺素(99.35%, MuST-14042311, 中国科学院成都生物研究所)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 WondaCract ODS-2, (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水;检测波长:335 nm;柱温:30 ℃;流速:1 mL/min;进样量:10 μL;以乙腈为流动相 A, 以水为流动相 B;梯度洗脱;理论板数按斯皮诺素峰计算应不低于 2000。

表 1 斯皮诺素 HPLC 梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0→10	12→19	88→81
10→16	19→20	81→80
16→22	20→100	80→0
22→30	100	0

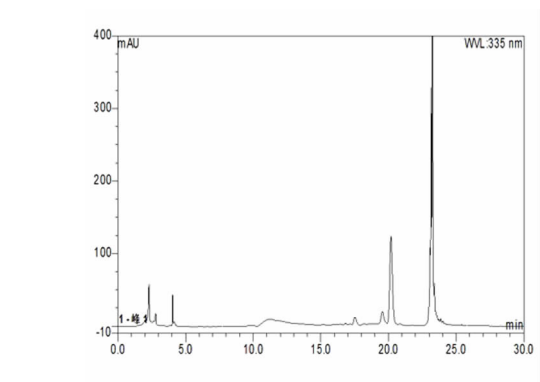


图 1 蜜枣仁样品 HPLC 图谱

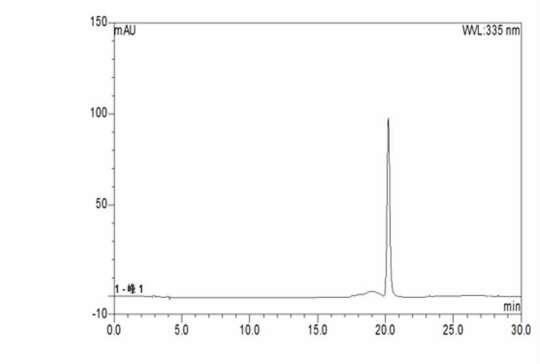


图 2 斯皮诺素标准品 HPLC 图谱

2.2 对照品溶液的制备 取斯皮诺素对照品 10 mg, 精密称定, 于 10 mL 容量瓶中加甲醇制成每 1

mL 含 1 mg 的溶液, 即得, HPLC 图谱见图 1。

2.3 供试品溶液的制备 参考文献^[6-8], 取蜜枣仁样品粉末(过四号筛)约 1 g, 精密称定, 置索式提取器中, 加石油醚(60%~90%)适量, 加热回流 4 h, 弃去石油醚液, 药渣挥去溶剂, 加入 70% 乙醇 20 mL, 加热回流 2 h, 滤过, 滤渣用 70% 乙醇 5 mL 洗涤, 合并洗液与滤液, 回收溶剂至干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得^[9-15], HPLC 图谱见图 2。

2.4 标准曲线的绘制 精密吸取斯皮诺素对照品贮备液 0.1、0.15、0.2、0.3、0.6 mL, 分别置于 2 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 配成系列对照品溶液。按上述色谱条件进样测得各浓度峰面积, 以峰面积 A 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标, 得回归曲线 $Y = 220.23x + 1.4498$, $R = 0.9930$, 结果显示斯皮诺素在 0.05~0.3 范围内有良好线性关系。见图 3。

2.5 精密度试验 精密量取对照品溶液(1 mg/mL)0.2 mL 于 2 mL 容量瓶, 加甲醇定容, 进样量为 10 μL, 分别连续进样 5 次, 结果对照品峰面积的 $RSD = 1.52\%$ 。见表 2。

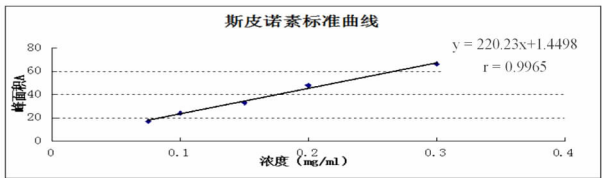


图 3 斯皮诺素标准曲线

表 2 精密度试验

编号	1	2	3	4	5	6	RSD%
峰面积	23.99	24.05	24.17	24.12	24.31	24.99	1.52

2.6 稳定性试验 精密量取对照品溶液(1 mg/mL)0.2 mL 于 2 mL 容量瓶, 加甲醇定容, 进样量为 10 μL, 分别于 1、2、3、4、6、8、10 和 12 h 进行测定, 结果对照品峰面积的 $RSD = 1.89\%$ 。见表 3。

表 3 稳定性试验

时间(h)	1	2	3	4	6	8	10	12	RSD%
峰面积	24.12	24.77	24.31	24.49	25.06	25.48	25.26	24.85	1.89

2.7 重复性试验 取同一样品 5 份, 每份 1 g, 精密称定, 按供试品溶液制备方法制备溶液, 分别进样, 进样量 10 μL, 测定 5 个结果 RSD 为 2.0%。见表 4。

表 4 重复性试验

编号	1	2	3	4	5	RSD%
峰面积	31.24	30.59	30.07	28.80	29.85	2.0

2.8 加样回收率试验 精密量取已知含量(0.1430 mg/mL)的炒酸枣仁样品溶液 0.9 mL,加入 0.1 mL 对照品溶液(1 mg/mL),摇匀,进样 10 μ L 进行测定,平行测定 6 份。计算平均回收率,结果平均回收率为 99.74%, $RSD = 1.46\%$ 。见表 5。

表 5 斯皮诺素加样回收率

编号	样品量 (mg)	加入标准品量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD %
1	0.1258	0.1	0.2241	98.31	99.74	1.46
2	0.1258	0.1	0.2251	100.40		
3	0.1258	0.1	0.2211	95.31		
4	0.1258	0.1	0.2257	99.94		
5	0.1258	0.1	0.2296	103.80		
6	0.1258	0.1	0.2265	100.67		

2.9 样品含量测定 样品按上述供试品溶液的制备方法制备样品溶液,精密吸取样品溶液 10 μ L,依照上述色谱条件进行测定。见表 6。

表 6 样品斯皮诺素含量测定结果

样品	峰面积	含量(%)	平均值(%)	RSD (%)
1	32.02	0.075		
2	31.98	0.074	0.075	0.14
3	32.60	0.076		

3 讨论

本实验以斯皮诺素为标准品,用 HPLC 法测定了福州特色饮片蜜炙酸枣仁中该成分的含量,实验结果显示,该方法准确、重现性好,可为蜜炙酸枣仁的炮制工艺研究及质量控制提供检测标准。

目前,蜜枣仁生产多依赖传统经验,缺乏客观化、数字化、可推广的工艺参数。如此条件下,很难保证饮片质量,进而会影响临床疗效。因此,斯皮诺素含量可作为质控指标,开展蜜枣仁炮制工艺规范化和质量标准研究。

实验过程中,尝试分析生枣仁中斯皮诺素的含

量,发现酸枣仁蜜炙后斯皮诺素含量稍有升高,可能与炮制过程辅料和加热有关,尤其是加热可在一定程度上促进药效成分的溶出。如需进一步研究酸枣仁蜜炙过程中的变化,需结合多个化学成分指标和药效学分析进行深入研究。

参考文献

[1]王茜,张艳强,杨艳婷,等. 酸枣仁的化学成分及应用研究进展[J]. 黑龙江中医药,2015,28(2):259-261.

[2]曾碧映,李嘉滢,李新才,等. 中药酸枣仁研究现状[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(12):74-75.

[3]福建省卫生厅. 福建省中药炮制规范[S]. 福州:福建科学技术出版社,1988:498.

[4]宋金泉,梁贞杰. 3 种酸枣仁的炮制体会[J]. 海峡药学,2008,20(9):72-73.

[5]国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:366-367.

[6]娄燕,贾英,何博赛,等. RP-I-PLC 双波长法同时测定酸枣仁汤中 5 种成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(7):537-540.

[7]常广璐,李国辉,李天祥,等. 天津产与市售野生酸枣仁的质量比较研究[J]. 中草药,2015,11(5):751-755.

[8]崔思娇,罗洁,马天成,等. 酸枣仁的超高效液相色谱指纹图谱[J]. 中国药学杂志,2013,48(7):509-511.

[9]杨军宣,张毅,蒲晓东,等. 超临界- CO_2 萃取酸枣仁皂苷类成分的研究[J]. 中成药,2015,37(4):899-902.

[10]林海成,祝洪艳,张连学,等. 正交试验优选酸枣仁总皂苷提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(5):42-45.

[11]毕福钧,林彤,江英桥,等. 酸枣仁提取物定性定量分析方法的研究[J]. 中药新药与临床药理,2015,26(3):365-369.

[12]王勇,魏娜,徐爽,等. 多指标正交试验法优选酸枣仁药材水提取工艺[J]. 海南医学院学报,2011,17(11):1452-1456.

[13]路娟,王维宁,赵娟,等. 灰关联度法评价中药酸枣仁的质量[J]. 沈阳药科大学学报,2011,28(7):549-555.

[14]毕福钧,林彤,江英桥. 酸枣仁提取物定性定量分析方法的研究[J]. 中药新药与临床药理,2015,26(3):365-369.

(2015-10-20 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 1084 页)

[10]袁佳,李页瑛,陈勇,等. 多指标正交设计优选丹参水提液醇沉工艺[J]. 中国医药工业杂志,2010,41(11):826-829.

[11]玄律,倪健. 多指标优选醒目颗粒水提醇沉制备工艺[J]. 中成药,2010,32(7):1238-1240.

[12]蒲维维,杨万政,王捷. 高速离心法对清喉颗粒除杂效果的研究[J]. 内蒙古石油化工,2011,37(23):3-5.

[13]常桂娟,白雪媛,孙立霞,等. 参精口服液的澄清工艺考察[J]. 中华医药杂志,2014,29(9):2792-2796.

[14]周琳,吴清,刘晓帆. 大孔树脂富集丹参水溶性有效成分的工艺研究[J]. 北京中医药大学学报,2011,34(4):266-270.

[15]张翠英,章洪,王阶. 大孔吸附树脂纯化丹酚酸 B 的工艺研究[J]. 安徽农业科学,2014,42(23):7752-7753,7768.

(2015-10-11 收稿 责任编辑:张文婷)