

脂肪油和总二萜含量与柏子仁质量的相关性分析

李瑞海*, 冯琳, 马欣悦, 孙延君, 刘书平, 贾天柱
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的:建立柏子仁中二萜类成分的含量测定方法,探讨柏子仁含油量和总二萜含量的关系,考察不同炮制法对柏子仁中脂肪油和二萜类化合物含量的影响。方法:采用香草醛-高氯酸比色法测定柏子仁中二萜类成分的含量,利用石油醚测定脂肪油含量,采用蒸、炒、制霜等方法炮制柏子仁。结果:总二萜在 $0.0117 \sim 0.0583 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系,回收率 RSD 0.7%。脂肪油含量和总二萜含量具有显著的相关性,相关度达 87%。柏子仁生品经蒸制、炒制后脂肪油和总二萜含量明显增加,制霜后二者含量明显下降。结论:柏子仁中脂肪油和二萜类成分的含量有较强的正相关性。蒸或炒制后有利于柏子仁中油脂性成分提出;制霜后脂肪油和二萜类成分含量减少,减小了滑肠的弊端。

[关键词] 柏子仁; 二萜类成分; 比色法; 脂肪油; 炮制方法

[中图分类号] R283.3;R284.1;R943.1;R927.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)12-0009-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120009

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150428.1016.007.html>

[网络出版时间] 2015-04-28 10:16

Relationship Between Contents of Fatty Oil, Total Diterpenoids and Quality of Platycladi Semen

LI Rui-hai*, FENG Lin, MA Xin-yue, SUN Yan-jun, LIU Shu-ping, JIA Tian-zhu (College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determining total diterpenoids in Platycladi Semen, investigate relationship of contents of fatty oil and total diterpenoids in Platycladi Semen, analyze influence of processing methods on quality of Platycladi Semen. **Method:** Vanillin-perchloric acid colorimetry was employed to determine the content of total diterpenoids, the content of fatty oil was determined by petroleum benzin. Platycladi Semen was processed by steaming, frying and frosting. **Result:** Total diterpenoids showed a good linear relationship in $0.0117 \sim 0.0583 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, RSD of recovery rate was 0.7%. Relationship between fatty oil and total diterpenoids was 87%. With steaming and frying method, contents of fatty oil and total diterpenoids significantly increased, but they decreased obviously by frosting method. **Conclusion:** Relationship between fatty oil and total diterpenoids in Platycladi Semen is a strong correlation. The content of grease composition increases with steaming and frying method, but they decrease by frosting method, and this method can reduce the side effect of Platycladi Semen.

[Key words] Platycladi Semen; total diterpenoids; colorimetry; fatty oil; processing methods

柏子仁的炮制方法有蒸、炒、制霜等^[1],但目前其炮制机制尚不明确。柏子仁含有大量脂肪油,常作为无效成分除去,如 2010 年版《中国药典》中柏子仁霜的制备方法就是将油脂经压榨后除去。前期研究发现柏子仁的脂肪油含有大量二萜类化合物,而二萜类化合物的代表性化合物——穿心莲内酯具

有抗癌、抗病毒、消炎止痛等活性^[2],说明柏子仁中脂肪油作为无效成分除去似不妥当。本实验主要研究不同产地柏子仁中脂肪油和二萜类化合物的含量,分析脂肪油和二萜类化合物在柏子仁中的含量关系;利用蒸、炒、制霜等方法炮制柏子仁,考察炮制方法对该药材中脂肪油和二萜类化合物的含量影

[收稿日期] 20140822(004)

[基金项目] 国家药品标准科研项目(201203)

[通讯作者] *李瑞海,博士,副教授,硕士生导师,从事药物制剂研究, Tel:0411-85890183, E-mail:1801517231@qq.com

响,以揭示柏子仁的炮制机制。文献报道^[3]柏子仁中含有的萜类化合物主要为二萜,并以半日花烷型二萜为主,故本实验选取与半日花烷型二萜具有相同母核的半日花烷型二萜内酯(穿心莲内酯)为指标成分,采用紫外分光光度法测定不同产地柏子仁中总二萜的含量,对比柏子仁含油量和二萜类成分与柏子仁生品、炮制品的相关性,为该药材的炮制方法选择和深入研究提供参考。

1 材料

U-3010型紫外-可见分光光度计(日本日立公司),SF-130B型高速粉碎机(上海冠联制药装备有限公司),ALC-110.4型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。穿心莲内酯对照品(成都普思生物科技有限公司,批号20131219,纯度>99%),试剂均为分析纯。柏子仁药材经辽宁中医药大学尹海波教授鉴定均为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* 的干燥成熟种仁,样品来源见表1。

表1 柏子仁的来源、含油量及其总二萜含量
Table 1 Origins of *Platycladi Semen* and its contents of fatty oil and total diterpenoids %

编号	来源	产地	脂肪油	总二萜
S1	江西黄庆仁棧华氏大药房	河北	44	6.53
S2	江苏南京同仁堂药店	江苏	37	3.90
S3	辽宁丹东中医院	安徽亳州	45	6.76
S4	福建福州瑞来春堂	福建福州	48	6.34
S5	福建武夷山天天好大药房	江西樟树	37	6.84
S6	贵州贵阳云华大药房	贵州贵阳	42	6.74
S7	宁波市江北百姓人家	山东	38	5.40
S8	湖南邵阳中心大药房	江西	40	7.29
S9	湖南楚济堂医药	河北安国	13	0.63
S10	辽宁大连	安徽亳州	30	5.17
S11	辽宁丹东	山东	51	8.81
S12	湖南怀仁大药房	山东	43	6.63
S13	内蒙古赤峰林西县药房	内蒙古赤峰	43	6.19
S14	山东省济宁市广联药房	河北	12	1.39
S15	本溪山城大药房	山东	39	6.16
S16	广东宝家康大药房	广东	35	7.55
S17	天津滨海大药房	山东	26	0.89
S18	朝阳大药房	河北	40	5.98

2 方法与结果

2.1 穿心莲内酯的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取穿心莲内酯对照品14.0 mg,置于100 mL量瓶中,加甲醇溶解

并稀释至刻度,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 取柏子仁样品,粉碎成细粉,研细后精密称取0.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,超声30 min,放冷,加甲醇补足失重,滤过,取续滤液5 mL置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 标准曲线的绘制 精密量取对照品溶液0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL,分别置于10 mL具塞试管中,水浴挥干溶剂,各加入新鲜配制的5%香草醛-冰乙酸溶液0.2 mL和高氯酸0.8 mL,摇匀,闭塞,60℃水浴中反应15 min,取出,迅速放入冰水浴中冷却,放冷后精密加入冰乙酸5 mL,摇匀,静置10 min,以试剂作为空白对照,在554 nm处测定吸光度A,以质量浓度(C)为横坐标,A为纵坐标,得回归方程 $A = 27.411C - 0.114 (R^2 = 0.9985)$,线性范围0.0117~0.0583 g·L⁻¹。

2.1.4 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液,按2.1.3项下方法显色后连续测定6次,结果A的RSD 0.1%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 精密称取样品S10细粉6份,每份0.5 g,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.3项下方法显色后测定,结果A的RSD 0.7%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于5,10,20,30,40,50,60,70,80,90 min按2.1.3项下方法显色并测定A,结果表明A在10~40 min变化幅度较小,RSD 0.2%;在40~90 min变化幅度较大,RSD 2.9%,表明供试品溶液经显色后在10~40 min稳定性良好。

2.1.7 加样回收试验 精密称取已知含量的样品S10(穿心莲内酯质量分数51.62 mg·g⁻¹)0.05 g,共6份,精密加入0.14 g·L⁻¹穿心莲内酯对照品溶液15 mL,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.3项下方法显色后测定A,计算平均加样回收率99.89%,RSD 0.7%,表明该方法准确可靠。

2.2 脂肪油的含量测定 在预试验基础上,精密称取不同产地柏子仁适量,加入10倍量石油醚索氏提取4 h后柏子仁油量不再增加,收集提取液,置干燥至恒重的蒸发皿中,水浴低温蒸干,100℃干燥1 h,放冷,精密称定,即得。

2.3 脂肪油和二萜成分含量的相关性分析 精密称取各产地样品细粉0.5 g,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.3项下方法显色后测定A,以穿心莲内酯计算药材中总二萜的含量,结果见表1,按

公式计算相关度达 87%, 式中 x, y 分别表示脂肪油和总二萜含量。

$$\text{相关度} = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

2.4 生品、炮制品中脂肪油和总二萜含量比较 取样品 S1, 按 2010 年版《中国药典》附录 II D 炮制通则中蒸制、炒制、制霜法炮制。蒸制法为取柏子仁去杂质, 置锅内, 用蒸气加热约 30 min, 取出, 晾干, 干燥备用。炒制法为取柏子仁去杂质, 中火炒至表面颜色加深, 取出, 放凉备用。制霜法为取柏子仁, 碾碎如泥, 经微热, 压榨除去大部分油脂, 残渣研制成松散粉末。取样品适量按 2.1 和 2.2 项下方法测定, 结果生品、蒸制品、炒制品及柏子仁霜中脂肪油质量分数分别为 44%, 47%, 48%, 13%; 总二萜质量分数依次为 6.53%, 6.78%, 6.81%, 1.53%。

3 讨论

穿心莲内酯是典型的半日花烷型二萜类化合物, 柏子仁主要含有半日花烷型为母核的二萜类成分^[2], 故选用穿心莲内酯为指标成分进行总二萜成分含量的比色法测定。预试验考察了甲醇、香草醛-高氯酸法、香草醛-硫酸法、硫酸-甲醇法、高氯酸等显色剂, 结果发现有的不显色, 有的在测定时受众多因素的影响较大; 而采用香草醛-高氯酸显色法显色时, 供试品溶液和穿心莲内酯对照品溶液在 554 nm 处均有最大特征吸收, 且为单一吸收峰, 与文献报道

中总二萜含量测定选用的方法一致, 该方法稳定可行, 为柏子仁质量标准的建立提供参考。

本文测定了不同产地柏子仁药材中总二萜和脂肪油的含量, 经相关度计算表明脂肪油和总二萜的含量有较强的正相关性。柏子仁经蒸制和炒制后, 脂肪油和二萜类成分的含量均有一定的增加, 说明传统炮制方法具有增效作用。但制霜后含油量降低, 减少了柏子仁滑肠的不利作用, 但二萜类成分的含量也相应减少, 因此在临床应用时应根据用途选择适当的炮制品, 以发挥柏子仁的临床疗效。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 231.
- [2] 吕巧莉, 涂国刚, 王嘉琦, 等. 穿心莲总内酯的研究进展及临床应用[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2013, 53(1): 83-86.
- [3] 中山大学. 半日花烷型二萜类化合物、柏子仁提取物及其制备方法和应用: 中国, CN201210181950 [P]. 2012-10-24.
- [4] 徐新刚, 付加雷, 闫雪生. 柏子仁和柏子仁霜中脂肪酸的 GC-MS 比较分析研究[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(9): 523-524.
- [5] 丁小丽, 牛文苗, 刘飞飞. 侧柏叶子与种子脂肪酸的 GC-MS 比较分析研究[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(1): 112-114.

[责任编辑 刘德文]