

决明子中化学对照品红镰霉素龙胆二糖苷稳定性

姜艳艳, 徐冬艳, 王月明, 刘慧, 刘斌*, 石任兵*
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 研究决明子中化学对照品红镰霉素龙胆二糖苷的稳定性。方法: 将红镰霉素-6-O- β -龙胆二糖苷分别置于不同温度、湿度及不同溶剂环境下处理, 采用高效液相色谱法测定含量, 计算剩余率。结果: 温度对红镰霉素龙胆二糖苷的稳定性影响较大, 湿度影响次之, 温度、湿度越高, 稳定性越差; 红镰霉素龙胆二糖苷在甲醇、乙醇中较为稳定, 在水、0.1% 盐酸溶液稳定性次之, 在0.1% 氨水溶液中稳定性最差。结论: 红镰霉素龙胆二糖苷应置于干燥器中低温或室温密封保存; 红镰霉素龙胆二糖苷对照品溶液应选择甲醇和乙醇为溶剂, 低温保存。

[关键词] 决明子; 红镰霉素龙胆二糖苷; 稳定性; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0142-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120224.1733.003 **[网络出版时间]** 2012-02-24 17:33

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120224.1733.003.html>

Stability of Chemical Reference Rubrofusarin-6-O- β -gentiobioside of Semen Cassiae

JIANG Yan-yan, XU Dong-yan, WANG Yue-ming, LIU Hui, LIU Bin*, SHI Ren-bing*
(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[收稿日期] 20111206(010)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI08B03-04); 北京中医药大学科研创新团队项目(2011-CXTD-12)

[第一作者] 姜艳艳, 博士, 讲师, 从事中药药效物质基础研究, Tel: 010-84738628, E-mail: jyyjm1129@163.com

[通讯作者] * 刘斌, 教授, 博士, 博士生导师, 从事中药药效物质基础与质量控制研究, Tel: 010-84738629, E-mail: liubinyn67@163.com;

* 石任兵, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础研究与药物创新研究

- [4] 王志芳, 王雁, 岳桦. 珍稀资源——黄牡丹[J]. 中国城市林业, 2007, 5(2): 59.
- [5] 孙丽荣, 曹雄, 侯凤青, 等. 芍药苷研究进展[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2028.
- [6] 王甫成, 时维静, 汪翠妮. 不同加工方法对亳白芍中芍药苷及水溶性浸出物含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 75.
- [7] 殷钢, 吴健, 夏侯福. 白芍炮制品中芍药苷水提取释放速度的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 30.
- [8] 王志芳. 黄牡丹种子萌发及其营养物质和内源激素的动态变化研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.
- [9] 娄方芳, 赵林森, 李宗艳. 昆明西山野生黄牡丹种子休眠与萌发特性初步研究[J]. 西南林学院学报, 2007, 27(5): 34.
- [10] 黄群莲, 王利国, 唐灿. 赤芍提取工艺条件[J]. 中成药, 2010, 32(2): 303.
- [11] 彭晓霞, 张振巍. 二次正交旋转组合设计法优化赤芍醇提工艺[J]. 中药材, 2010, 33(6): 991.
- [12] 赵曼茜, 吕金嵘, 杨光, 等. 土壤无机元素对赤芍无机元素及芍药苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 30.
- [13] 胡世林, 付桂兰, 冯学峰, 等. 不同产地和部位赤芍中芍药苷的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12): 714.
- [14] 全维明, 黎跃成, 陈先玉, 等. 川产赤芍中芍药苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(10): 1617.
- [15] 金昌东, 徐国钧, 金蓉鸾, 等. 反相 HPLC 法测定 13 种芍药根中甙类和苯甲酸的含量[J]. 中国药科大学学报, 1989, 20(3): 139.
- [16] 吴健, 赵亮. HPLC 法测定栽培芍药枯萎前后不同部位芍药苷的含量变化[J]. 中草药, 2005, 36(1): 122.
- [17] 中国药典. 一部[S]. 2010: 147.

[责任编辑 邹晓翠]

[Abstract] **Objective:** To study the stability of rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside of Semen Cassiae. **Method:** Rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside was processed under different temperature, humidity and solvent respectively. The content was determined by HPLC and the remaining percentages of rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside were calculated. **Result:** The stability of rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside was influenced mostly by temperature, and secondly by humidity. The stability of rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside reduced along with the temperature rising and the humidity increasing; rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside was much more stable in methanol and ethanol than in water and 0.1% hydrochloric acid aqueous solution, and rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside transferred to other substance in 0.1% ammonia aqueous solution. **Conclusion:** Rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside should be preserved under low or room temperature in dry condition. Methanol or ethanol should be selected as solvent of rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside solution, preserved under low temperature.

[Key words] Semen Cassiae; rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside; stability; HPLC

决明子是豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子,具有清肝明目、润肠通便的功效,用于目赤涩痛、羞明多泪、头痛眩晕、目暗不明、大便秘结^[1]。现代医学研究表明决明子具保肝明目、降血压、降血脂、增强机体免疫力、抗衰老等多方面作用^[2-4]。决明子主要含有蒽醌类和萘啶吡喃酮类等化学成分^[5],其中萘啶吡喃酮类化合物主要包括红镰霉素、红镰霉素-6-*O*- β -龙胆二糖苷、决明子苷、决明子苷 B、决明子苷 C、决明苷 B₂、决明苷 C₂、决明内酯等,为决明子中重要药效成分,具有降血脂、保肝、抗突变、抗雌激素、抑制高级糖基化终末化产物生成等作用^[6-9]。红镰霉素龙胆二糖苷为决明子中主要萘啶吡喃酮类成分,为决明子活性成分之一,在药材中含量较高,因此确立其为决明子新的化学对照品,并用于药材及相关制剂的质量控制十分必要。本课题组对决明子中红镰霉素龙胆二糖苷化学对照品的分离制备、纯度检测、稳定性、质量标准等进行了系统研究^[10]。针对化学对照品在储存和使用过程中,物理、化学性质可能会发生变化的情况,本文对红镰霉素龙胆二糖苷化学对照品稳定性进行研究。

1 仪器及试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪(2996 紫外检测器,Empower 色谱工作站,25 μ L 可调进样器),Sartorius BT 25S 型 1/10 万电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司),KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司),LHS-100CL 恒温恒湿培养箱(上海一恒仪器有限公司)。

甲醇、乙腈(德国 Sigma-Aldrich 公司,色谱纯),屈臣氏纯净水,其他试剂均为分析纯。

红镰霉素龙胆二糖苷化学对照品,自制,HPLC

归一化法和差示扫描量热法(DSC 法)测定纯度均 >98.00%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm,5 μ m),流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(22:78),检测波长 278 nm,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}$ C,运行时间 20 min。HPLC 图见图 1。

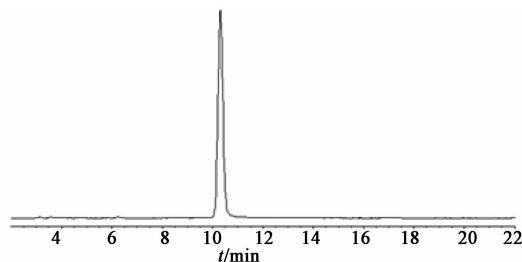


图 1 红镰霉素-6-*O*- β -龙胆二糖苷对照品 HPLC

2.2 样品溶液制备 精密称取红镰霉素龙胆二糖苷样品 3.08 mg,置 25 mL 量瓶中,甲醇超声溶解,稀释至刻度,即得样品溶液。

2.3 不同温、湿度条件下稳定性考察 分别精密吸取样品溶液 0.2 mL 于玻璃管中,挥干溶剂,取其中一只玻璃管,精密加入 0.6 mL 甲醇溶解,超声混合均匀,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,精密吸取滤液 10 μ L,依法测定,记录峰面积,即得初始峰面积。其他玻璃管分别置于不同温度、湿度条件下的恒温恒湿箱中,于不同时间点取样,溶解,依法测定,记录色谱峰峰面积,计算剩余样品百分比,结果见表 1 和图 2。

2.4 不同溶剂-温度下稳定性考察 分别精密吸取样品溶液 0.2 mL 于 10 mL 鸡心瓶中,冷风吹干溶剂,取其中一瓶留用,精密加入 0.6 mL 甲醇溶解,超声使其混合均匀,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,精密

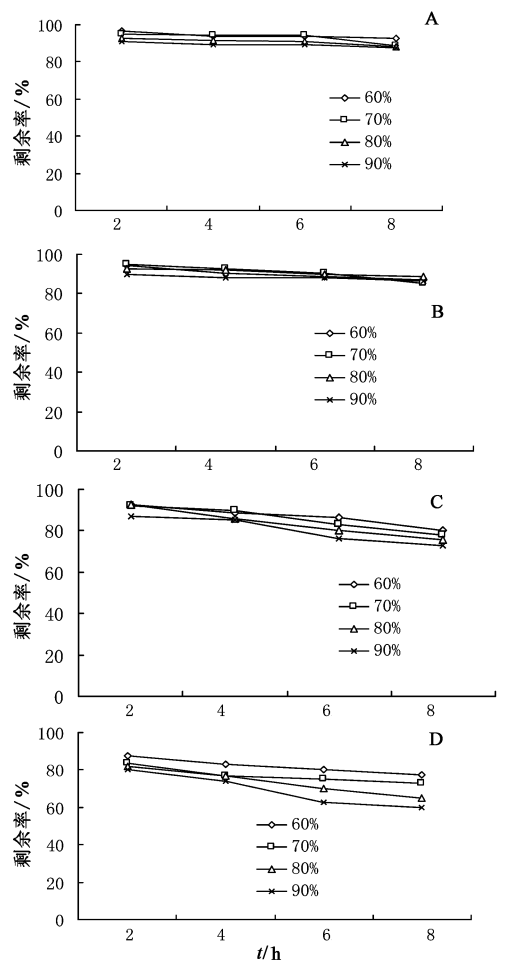
表 1 不同温、湿度条件下红镰霉素龙胆二糖苷剩余率 %

温度 / $^{\circ}\text{C}$	相对湿度 /%	取样时间/h			
		2	4	6	8
50	60	96.53	94.03	93.97	92.89
	70	95.17	94.55	94.10	88.73
	80	92.92	91.35	90.77	87.96
	90	90.77	89.53	89.02	87.80
60	60	94.58	90.60	88.91	86.92
	70	94.74	92.73	90.13	85.55
	80	92.69	92.31	89.89	88.85
	90	89.97	88.40	88.17	86.70
70	60	92.83	88.87	86.21	80.02
	70	92.25	89.90	83.04	78.21
	80	92.66	85.63	80.21	75.80
	90	87.20	85.47	76.37	73.07
80	60	87.45	83.18	80.40	77.21
	70	83.53	76.97	75.03	73.14
	80	81.72	77.10	70.01	64.89
	90	80.42	73.75	62.95	59.84

吸取滤液 10 μL , 依法测定, 记录峰面积, 即得初始峰面积。其他瓶中分别加入 5.0 mL 甲醇、无水乙醇、水、0.1% 盐酸、0.1% 氨水, 分别置于 (40 ± 1) , (60 ± 1) , (80 ± 1) , (100 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中加热回流, 于不同时间点取样。回流样品取出后挥干溶剂, 溶解, 依法测定, 记录峰面积, 计算红镰霉素龙胆二糖苷剩余率。结果见表 2 和图 3。

表 2 不同溶剂-温度下红镰霉素龙胆二糖苷剩余率 %

溶剂	水浴温度 / $^{\circ}\text{C}$	取样时间/h			
		2	4	6	8
甲醇	40	97.32	95.98	94.25	94.06
	60	98.06	94.62	95.51	93.66
	80	97.17	95.49	93.54	89.21
	100	92.24	89.45	88.03	85.91
乙醇	40	95.52	94.64	93.74	91.42
	60	94.22	93.92	93.34	91.04
	80	95.66	92.69	87.72	86.47
	100	91.94	90.56	87.14	84.05
水	40	88.45	86.40	81.82	79.32
	60	81.15	80.00	78.34	74.65
	80	79.29	77.75	75.63	70.86
	100	66.57	62.25	53.05	46.12
0.1% 盐酸溶液	40	55.13	49.39	37.27	33.29
	60	42.02	40.07	25.47	22.10
	80	33.02	27.36	21.98	17.59
	100	27.64	24.61	16.02	11.36
0.1% 氨水溶液	40	73.69	70.48	63.22	60.97
	60	41.99	24.81	23.11	17.49
	80	39.67	17.62	11.75	7.80
	100	23.88	7.89	5.34	4.57



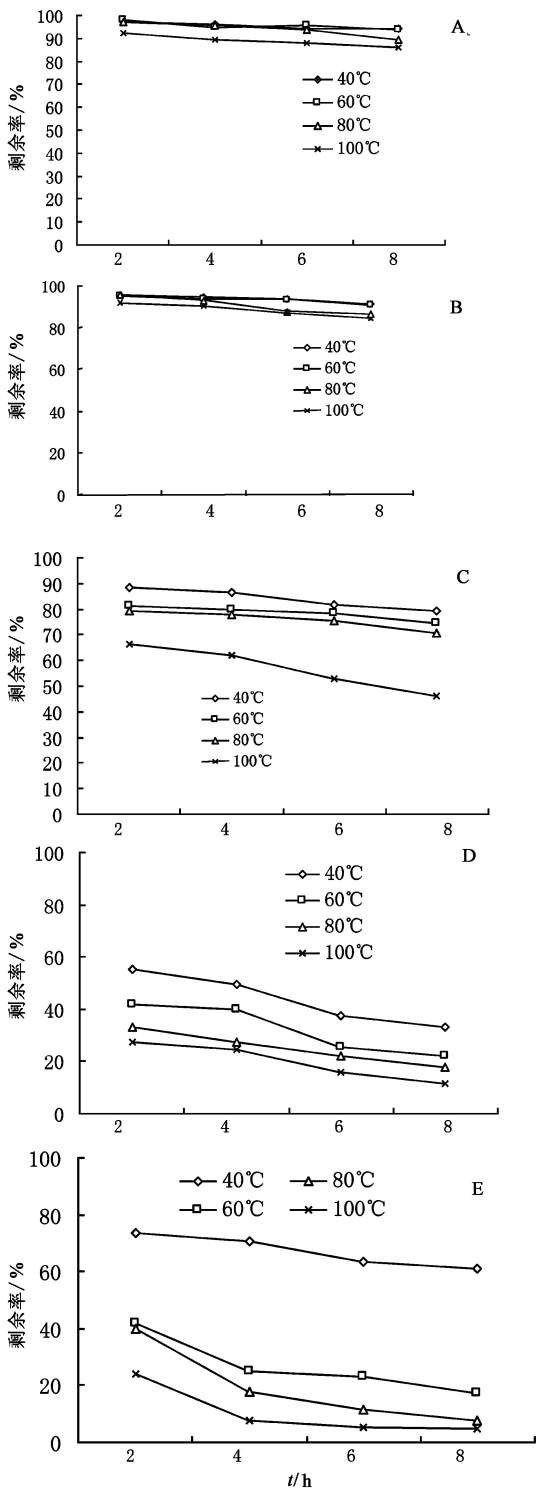
A. 50 $^{\circ}\text{C}$; B. 60 $^{\circ}\text{C}$; C. 70 $^{\circ}\text{C}$; D. 80 $^{\circ}\text{C}$

图 2 不同温度和湿度条件下红镰霉素龙胆二糖苷剩余量-时间曲线

3 结果与讨论

温度对红镰霉素龙胆二糖苷稳定性影响较大, 湿度次之。红镰霉素龙胆二糖苷对照品在 60 $^{\circ}\text{C}$ 以下, 相对湿度 90%, 加热 8 h 后仍有 85.0% 以上剩余, 表明在较低温度环境中, 红镰霉素龙胆二糖苷稳定性较好, 随着温度增高, 湿度增大, 红镰霉素龙胆二糖苷的稳定性逐渐降低, 因此, 红镰霉素龙胆二糖苷对照品应置于低温环境中密封保存, 以保证其质量及科学使用。

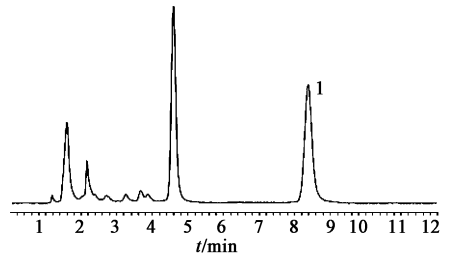
红镰霉素龙胆二糖苷在甲醇、乙醇中稳定性最好, 在水和 0.1% 盐酸溶液中稳定性次之, 在 0.1% 氨水溶液稳定性最差。红镰霉素龙胆二糖苷溶解于甲醇和乙醇时, 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 8 h 后仍有 80% 以上剩余, 且在甲醇溶液中稳定性略优于在乙醇中的稳定性。红镰霉素龙胆二糖苷溶于 0.1% 氨水溶液时, 在较高温度处理, 剩余量不足 10%, HPLC 显示 (图 4), 红镰霉素龙胆二糖苷在 0.1% 氨水溶液中



A. 甲醇溶液; B. 乙醇溶液; C. 水溶液;
D. 0.1% 盐酸溶液; E. 0.1% 氨水溶液

图3 红镰霉素龙胆二糖苷在不同溶剂中剩余量-时间曲线

转化为其他物质,但转化物质及转化机制尚不清楚,有待进一步研究。



1. 红镰霉素龙胆二糖苷

图4 红镰霉素龙胆二糖苷在0.1%氨水溶液中处理后 HPLC

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2010:135.
 [2] 郝延军,桑育黎,赵余庆. 决明子的研究进展[J]. 中草药,2001,32(9):858.
 [3] 潘正军,陆祈,潘丽,等. 决明子水提液对高血压小鼠血压血脂及肾脏结构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):195.
 [4] 马路,江梦溪,刘剑刚,等. 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(1):24.
 [5] 唐力英,王祝举,赫炎,决明子中萘类化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(7):35.
 [6] Wong S, Wong M, Seligmann O, et al. New antihepatotoxic naphthopyrone glycosides from the seeds of *Cassia tora*[J]. *Planta Med*, 1989, 55(3): 276.
 [7] Juan D, Kim Y, Kim N, et al. Extract of *Cassia* Semen and its major compound inhibit S100b-induced TGF- β 1 and fibronectin expression in mouse glomerular mesangial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 641(1): 7.
 [8] Lee G, Jang D, Lee Y, et al. Naphthopyrone glucosides from the seeds of *Cassia tora* with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation[J]. *Arch Pharm Res*, 2006, 29(7): 587.
 [9] 吕翠,黎海彬,李续娥,等. 中药决明子的研究进展[J]. 食品科学,2006,17(8):295.
 [10] 徐冬艳. 降脂抗氧化有效部位质量控制方法研究[D]. 北京:北京中医药大学,2010.

[责任编辑 邹晓翠]