

## 白芥子饮片的质量评价研究

张村, 李丽, 肖永庆\*, 逢镇, 李桂柳, 于定荣, 麻印莲  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究建立白芥子饮片的质量评价标准。方法: 以 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基苯甲酰胆碱和芥子碱复盐为对照品进行 TLC 鉴别, 同时以芥子碱复盐为对照品进行 HPLC 含量测定, Agilent TC-C<sub>18</sub>(2) 柱, 乙腈-0.1% 磷酸溶液梯度洗脱, 检测波长 326 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 。结果: 白芥子炒制前后的 TLC 整体图谱没有明显差异, 芥子碱复盐的含量略有下降。结论: TLC 鉴别方法简便, 专属性强; HPLC 含量测定方法精密度高, 重复性好, 为白芥子饮片的质量评价方法提供了实验依据。

[关键词] 白芥子饮片; 质量评价; 薄层鉴别; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0030-03

## Studies on Quality Standard in Aeads of Processed *Sinapis Alba*

ZHANG Cun, LI Li, XIAO Yong-qing\*, PANG Zhen, LI Gui-liu, YU Ding-rong, MA Yin-lian  
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the quality standard in the seeds of *Sinapis alba* before and after roasted. **Method:** The presence of 4-hydroxybenzylglucosinolate, 4-hydroxy benzoylcholine and sinapine was identified by TLC. The separation of sinapine was determined by HPLC on a Agilent TC-C<sub>18</sub>(2) column at 35 with the acetonitrile-0.1% phosphoric acid as the mobile phrase in gradient elution. The detection wavelength was set at 326 nm and the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** The TLC chromatograms showed the little differences, and the contents of sinapine reduced after roasted by HPLC. **Conclusion:** The established methods were simple and could provide a scientific basis for the quality evaluation of *S. alba*.

[Key words] *Sinapis alba*; quality evaluation; TLC; HPLC

白芥子为《中国药典》芥子项下收录的 2 个药材基源(白芥子、黄芥子)之一, 即十字花科植物白芥 *Sinapis alba* L. 的干燥成熟种子, 具有温肺豁痰利气, 散结通络止痛的作用, 用于治疗寒痰咳喘, 痰滞经络, 关节麻木、疼痛, 痰湿流注, 阴疽肿毒等症。临

床上需炒制入药。由于白芥子的祛痰平喘作用胜于黄芥子, 且毒性低于黄芥子, 因此白芥子为主要的市场流通品种。化学研究表明白芥子主要含有白芥子苷, 可在芥子酶的作用下水解为芥子碱。药理研究表明, 芥子碱具有抗辐射及抗氧化、抗雄性激素、缓慢降压等多种药理活性<sup>[1-2]</sup>。目前, 对于白芥子饮片的质控多采用传统的经验鉴别方法, 缺乏现代客观的质量评价指标。因此本试验以 HPLC 对白芥子及其炒制品中芥子碱的含量进行测定的同时, 首次以 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱、芥子碱复盐等 3 个成分为对照品, 建立了白芥子饮片的 TLC 鉴别方法, 以期为白芥子及其炒制品质量评价标准的制定提供科学依据。

[收稿日期] 2010-06-07

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAI09B06-01), 国家科技重大专项项目“综合性中药新药研究开发技术大平台”(2009ZX09301-005-03)

[第一作者] 张村, 女, 博士, 副研究员, 主要从事中药化学成分、质量评价以及中药炮制研究

[通讯作者] \* 肖永庆, 研究员, 博士生导师, 研究方向中药化学, 中药炮制, Tel: 010-84040221, E-mail: x.heqi@163.com

## 1 仪器与试药

Agilent 1100 series, 包括四元泵 (QuataPump), 自动进样器 (ALS), DAD 检测器, 在线脱气机 (Degasser)。水为重蒸馏水, 甲醇、乙腈均为色谱纯, 使用前均经 0.45 μm 滤膜滤过, 其他试剂为分析纯; 薄层板为 Merck SG60 F254 预制板。旋转炒药机 (DY-640 型), 河南省周口制药机械厂出品。

对照品芥子碱复盐、4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱为本研究室从白芥子中分离、纯化而得, 经 HPLC 面积归一化法测定其纯度均大于 98%, 可供 HPLC 含量测定用。

白芥子药材产自安徽、四川等省, 经中国中医科学院中药研究所胡世林研究员鉴定为白芥子 *S. alba* L., 由安徽沪谯中药饮片厂按照《中国药典》、《全国中药炮制规范》相关项下的炮制方法, 分别制备成 10 批白芥子生品, 10 批白芥子炒制品, 供实验研究用。

## 2 方法与结果

**2.1 饮片制备** 生白芥子: 取白芥子药材, 除去杂质。生白芥子类圆形, 表面灰白色或黄白色, 气微, 味辛辣。炒白芥子: 取生白芥子适量, 置已加热的炒药机中炒制 8~10 min, 至表面有深黄色或深棕黄色爆裂, 有香辣气, 出锅, 摊开晾凉。

**2.2 TLC 鉴别** 取白芥子饮片粉末 (过 40 目筛) 各 0.5 g, 置具塞试管中, 加入 5 mL 甲醇, 超声提取 20 min, 过滤, 作为供试品溶液。另取 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱、芥子碱复盐各 1 mg, 加甲醇溶解至 1 mL 量瓶中, 作为对照品溶液。吸取上述溶液各 10 μL 分别点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以丙酮-甲醇-甲酸-水 (12:1:0.5:0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯下检视。结果 254 nm 下, 白芥子不同饮片在与对照品 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱、芥子碱复盐相应的位置上均显示相同颜色的暗斑, 炒品的斑点强度弱于生品; 而在 365 nm 下, 样品只有在与芥子碱复盐相应的位置上显示一个相同的蓝色荧光斑点, 其余 2 个对照品在此波长下不显色 (图 1~2)。

**2.3 色谱条件** 色谱柱: Agilent TC-C<sub>18</sub> (2) 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸溶液 (B) 梯度洗脱, 0~15 min, 13% A; 15~30 min, 13%~80% A; 柱温 35 °C; 检测波长 326 nm; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 在此条件下样品中芥子碱复盐与其

他组分均能达到基线分离, 理论板数按芥子碱复盐峰计算不低于 3 000 (图 3)。

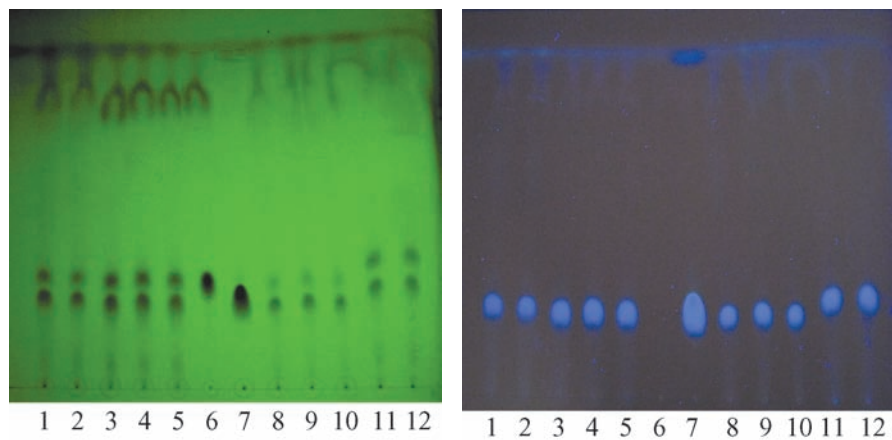


图 1 白芥子饮片的 TLC 图 (254 nm) 图 2 白芥子饮片的 TLC 图 (365 nm)

1~3. 四川-生品; 4~5. 安徽-生品;  
8~10. 四川-炒品; 11~12. 安徽-炒品;  
6. 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱 (自上而下);  
7. 芥子碱复盐

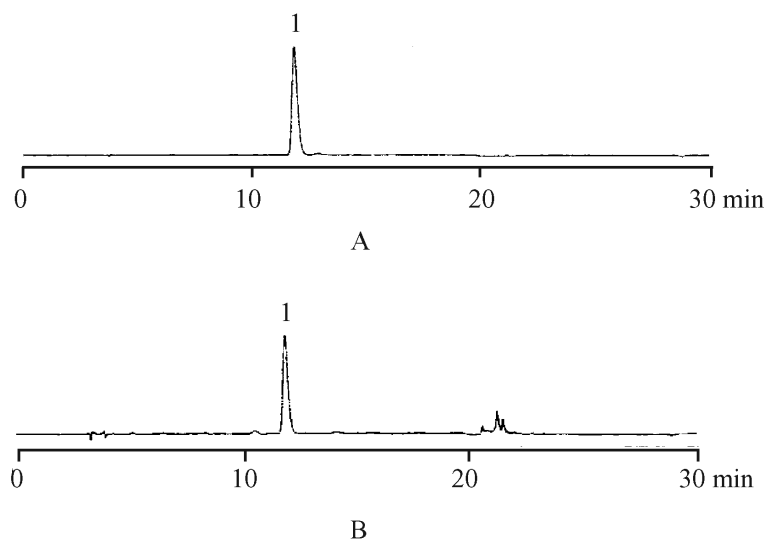


图 3 白芥子饮片的 HPLC 色谱图

A. 对照品色谱图; B. 白芥子饮片色谱图; 1. 芥子碱复盐

**2.4 对照品溶液制备及线性关系考察** 精密称取芥子碱复盐对照品适量, 加流动相溶解并稀释成 0.179 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。分别进样 1, 2, 4, 8, 12, 16 μL, 以进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线, 并绘制回归方程  $Y = 3.18 \times 10^3 X + 1.85$ ,  $r = 1$ 。结果表明芥子碱复盐在 0.179~2.864 μg 线性关系良好。

**2.5 供试品溶液的制备** 取白芥子饮片粉末 (过 40 目筛) 各 0.5 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 20 min (功率 100 W, 频率 40 kHz) 后, 放冷, 再称定质量, 以相应溶剂补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 以微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

**2.6 精密度试验** 精密吸取供试品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 测定峰面积积分值, 结果 RSD 0.22%。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 依法测定, 结果在 24 h 内 RSD 0.30%, 可见样品溶液在 24 h 内保持稳定。

**2.8 重复性试验** 精密称取同一批号的白芥子生品 5 份, 各约 0.5 g, 精密称定, 制备成供试品溶液, 依法测定, 结果芥子碱复盐 5 次测定值的相对标准偏差为 1.15%。

**2.9 加样回收率试验** 精密称取已知含量的白芥子粗粉 0.25 g, 分别加入适量的对照品, 按供试品溶液的制备方法制备, 测定, 平均回收率为 100.40%, RSD 2.61%, 结果见表 1。

表 1 芥子碱复盐加样回收率试验

No.	加入量 /mg	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率 /%	RSD /%
1	1.789 5	1.590 7	3.448 0	103.79		
2	1.789 5	1.588 1	3.420 2	102.38		
3	1.789 5	1.584 3	3.364 6	99.49	100.40	2.61
4	1.789 5	1.585 0	3.340 3	98.09		
5	1.789 5	1.593 9	3.351 7	98.23		

**2.10 饮片含量测定** 精密吸取白芥子饮片不同样品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 依法测定, 结果见表 2。

### 3 讨论

本研究在对白芥子化学成分研究的基础上, 首次建立了以 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱、芥子碱复盐等 3 种成分为对照品的白芥子饮片的 TLC 鉴别方法, 结果显示白芥子炒制前后的 TLC 图谱变化不大, 只是在 254 nm 下, 白芥子炒制后的斑点强度弱于生品。与《中国药典》相比, 增加了 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苯甲酰胆碱等 2 个对照品, TLC 鉴别方法简便易行, 重复性好, 可用于白芥子饮片的定性鉴别。

表 2 白芥子饮片含量测定结果 ( $n=2$ ) %

样 品	生 品	炒 品
安徽 1-1	0.870 2	0.678 6
安徽 1-2	0.890 1	0.637 1
安徽 1-3	0.873 9	0.629 6
安徽 2-1	0.787 2	0.629 7
安徽 2-2	0.799 5	0.683 1
安徽 2-3	0.855 8	0.722 8
四川-1	0.663 6	0.665 0
四川-2	0.669 6	0.628 3
四川-3	0.642 0	0.620 5
四川-4	0.661 5	0.616 7
平均含量	0.771 3	0.651 1

芥子碱为季铵类生物碱, 在弱酸性溶液中稳定, 因此对甲醇-水、甲醇-酸水、乙腈-酸水溶液等流动相进行了考察, 结果以乙腈-0.1% 磷酸水溶液梯度洗脱, 样品分离较佳。样品提取方法首先进行甲醇、50% 甲醇、95% 乙醇、50% 乙醇等不同溶剂提取的比较, 同时进行了超声 (10, 20, 30 min)、回流 (1, 2, 3 h) 及冷浸 (8, 12, 24 h) 等提取方法的平行比较, 结果以 50% 甲醇超声提取 20 min 样品中芥子碱复盐含量最高。方法学考察结果表明该法简便、准确, 可用于白芥子饮片的含量测定。

样品测定结果表明, 不同产地白芥子生品中芥子碱复盐的平均含量约为 0.77%, 炒品约为 0.65%, 说明白芥子炒制后芥子碱含量减少, 10 批测定结果平均减少 15.58%。以上研究为探索建立科学、可控的白芥子饮片的质量评价方法奠定了实验依据。

### [参考文献]

- [1] 敏锐, 吴国欣, 林跃鑫. 中药白芥子研究概述 [J]. 海峡药学, 2001, 13(2): 8.
- [2] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 149.

[责任编辑 顾雪竹]