

·化学与分析·

芥子不同品种的色谱对应鉴别

张村, 李丽, 肖永庆*, 逢镇, 李桂柳, 麻印莲

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究建立芥子不同品种的化学色谱对应鉴别方法。方法: 以 4-羟基-苜基芥子苷、4-羟基苯甲酰胆碱和芥子碱复盐为对照品, 采用 TLC 和 HPLC 鉴别。结果: 黄芥子、白芥子的 TLC 和 HPLC 图谱有明显差异, 白芥子能检出 3 个对照品, 黄芥子仅能检出芥子碱复盐, 2 种色谱方法鉴定结果一致。结论: 所建立的 TLC 和 HPLC 图谱鉴别方法简便易行, 可以快速地鉴别区分黄芥子和白芥子, 为芥子不同品种的质量评价方法提供了试验依据。

[关键词] 白芥子; 黄芥子; 对应鉴别; 薄层色谱; 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)14-0038-03

Chromatographic Corresponding Identifications in Different Botanical Origins of Sinapis Semen

ZHANG Cun, LI Li, XIAO Yong-qing*, PANG Zhen, LI Gui-liu, MA Yin-lian

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the chemical chromatographic corresponding methods in different botanical origins of Sinapis semen. **Method:** The presence of 4-hydroxybenzylglucosinolate, 4-hydroxy benzoylcholine and sinapine was identified by TLC and HPLC, respectively. **Result:** The TLC and HPLC chromatograms showed the obvious differences between the two origins, while three standards were identified in *Sinapis alba*, and only sinapine was detected in *Brassica juncea*. **Conclusion:** The established methods were simple and can be used for evaluating the quality in different botanical origins of Sinapis semen.

[Key words] *Sinapis alba*; *Brassica juncea*; corresponding identification; TLC; HPLC

芥子为常用中药, 首载于《名医别录》, 列为上品, 其性味辛热, 具有温中散寒、利气豁痰的作用, 临床上常用来消肿毒及祛痰等。现代研究证实芥子除具有镇咳、祛痰、平喘等与其传统相符的功效外, 芥子中的芥子碱和芥子酸具有辐射保护作用, 可开发

成防晒护肤化妆品或抗衰老的保健品。芥子中的抗雄激素物质, 可望用于治疗由雄激素代谢异常引起的前列腺增生, 痤疮, 脱发等疾病, 同时芥子中含量较多的维生素, 可用于治疗夜盲症 (Vit. A 缺乏)、癞皮病 (Vit. B₂ 缺乏)、坏血病 (Vit. C 缺乏) 等^[1]。

《中国药典》(2010 年版) 在芥子项下同时收载了 2 个药材基源, 即十字花科植物白芥 *Sinapis alba* L. 或芥 *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss. 的干燥成熟种子, 前者习称“白芥子”, 后者习称“黄芥子”。2 种芥子的临床功效基本一致, 但白芥子的祛痰平喘作用强于黄芥子, 黄芥子的毒性大于白芥子, 因此白芥子的市场需求量大。但由于黄芥子、白芥子的外观性状相似, 有不法商家把黄芥子用硫磺熏烤, 使其颜色由黄色转变成淡黄色, 冒充白芥子销售, 严重

[收稿日期] 20100604006

[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(2009ZX09301-005-03)

[第一作者] 张村, 博士, 副研究员, 从事中药化学成分质量评价及中药炮制研究

[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

影响了临床用药的准确性。因此,本试验以分离得到的 3 种对照品,建立了芥子 2 个品种的 TLC 和 HPLC 图谱的对应鉴别方法,以期为芥子不同品种的质量评价提供试验依据。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪 (Waters 2695 Separations Module, Waters 2996 PAD 检测器, Millennium³² 数据处理软件); 超声清洗器 KQ-500DB (昆山市超声仪器有限公司); 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 使用前均经 0.45 μm 滤膜滤过, 其他试剂均为分析纯。薄层板为 Merck SG60 F254 预制板。

芥子碱复盐等对照品为本研究组从白芥子中分离鉴定, 经 HPLC 分析, 其含量达到 98% 以上。白芥子 4 批药材产自四川、安徽, 黄芥子 3 批药材产自河南、内蒙、辽宁, 经中国中医科学院中药研究所胡世林研究员鉴定分别为白芥 *S. alba* L. 和芥 *B. juncea* (L.) Czern. et Coss 的种子。

2 方法和结果

2.1 黄芥子、白芥子的 TLC 鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取白芥子、黄芥子不同药材粉末 (过 40 目筛) 各 0.5 g, 置具塞试管中, 加入 5 mL MeOH, 超声提取 20 min, 过滤, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基-苄基芥子苷、芥子碱复盐适量, 加适量甲醇溶解至 1 mL 量瓶中, 即得各含 1 g · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 薄层鉴别 照薄层色谱法试验, 吸取上述对照品和供试品溶液各 5 ~ 10 μL, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 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 (254 nm) 检视, 见图 1。由紫外灯下 (254 nm) 检视可以明显看出, 白芥子药材与黄芥子药材的 TLC 图谱有明显差异, 4 个白芥子药材样品在与芥子碱复盐等 3 个对照品相应的位置上, 均显示相同颜色的斑点, 而 3 个黄芥子药材样品在与对照品相应的位置上, 仅检出芥子碱复盐。因此, 通过 TLC 方法能明显区分黄芥子和白芥子。

2.2 HPLC 图谱鉴别

2.2.1 色谱条件^[2] Agilent TC-C₁₈ (2) 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相乙腈 (A) - 0.1% 磷酸溶液 (B) 梯度洗脱, 0 ~ 10 min, 2% ~ 15% A; 10 ~ 15 min, 15% ~ 30% A; 15 ~ 25 min, 30% ~ 45%

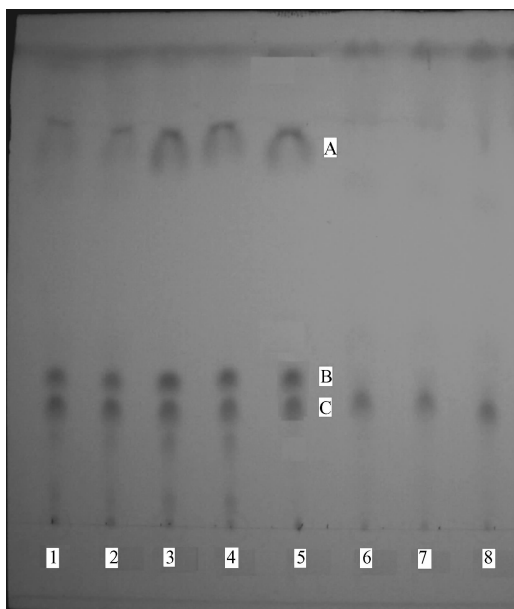


图 1 黄芥子、白芥子的 TLC 图谱比较 (254 nm)

1. 白芥子 (四川-1); 2. 白芥子 (四川-2); 3. 白芥子 (安徽-1);
4. 白芥子 (安徽-2); 5. 对照品 (A. 4-羟基-苄基芥子苷; B. 4-羟基苄基甲酰胺; C. 芥子碱复盐); 6. 黄芥子 (内蒙); 7. 黄芥子 (辽宁); 8. 黄芥子 (河南)。

A; 25 ~ 30 min, 45% ~ 100% A; 30 ~ 36 min, 100% A; 柱温 35 °C; 检测波长 254 nm; 流速 1.0 mL · min⁻¹, 在此条件下样品分离较佳。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取白芥子、黄芥子药材粉末 (过 40 目筛) 各 1 g, 置具塞三角瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 超声提取 20 min 后, 过滤, 取续滤液过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.2.3 测定 精密吸取上述供试品溶液以及 2.1.2 项下的对照品溶液各 10 μL, 依法测定, 见图 2 ~ 4。

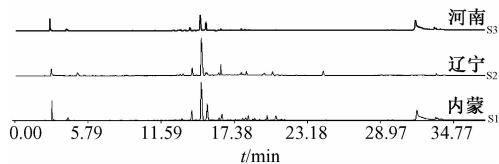


图 2 黄芥子不同产地药材的 HPLC 图谱

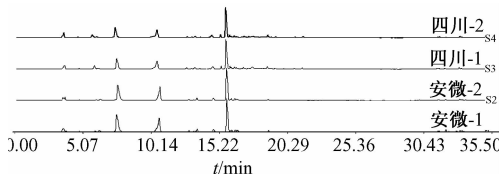


图 3 白芥子不同产地药材的 HPLC 图谱

2.2.4 结果 由图 2 ~ 4 可以看出, 在此色谱条件下黄芥子与白芥子药材的 HPLC 色谱图有明显差异。黄芥子 HPLC 图谱同白芥子相比, 均以 C 峰 (芥

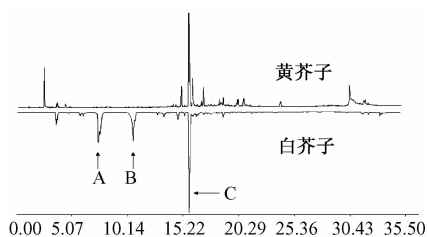


图 4 黄芥子、白芥子药材 HPLC 图谱镜像比较图

A. 4-羟基-苄基芥子苷, B. 4-羟基苯甲酰胆碱, C. 芥子碱复盐

子碱复盐)的色谱峰最强,但在 R_t 6 ~ 11 min 缺少 A 峰(4-羟基-苄基芥子苷)、B 峰(4-羟基苯甲酰胆碱) 2 个比较大的色谱峰。

3 讨论

分别考察了氯仿-甲醇-甲酸、丙酮-甲醇-水、乙酸乙酯-丙酮-甲醇-冰醋酸、丙酮-甲醇-甲酸-水等不同的展开剂,结果以丙酮-甲醇-甲酸-水(12:1:0.5:0.5)为展开系统时,主要斑点清晰可见, R_f 值适中展开效果较好。

本研究首次同时以 4-羟基-苄基芥子苷、4-羟基苯甲酰胆碱和芥子碱复盐等 3 个成分为对照品,采用 TLC 和 HPLC 两种方法对应鉴别黄芥子和白芥子药材,2 种方法均以 254 nm 检测。结果表明不同产地黄芥子、白芥子药材的整体图谱差异不大,但黄芥子、白芥子 2 个品种的图谱有较明显差异,同黄芥子

相比,HPLC 图谱清楚地显示白芥子多了两个主要色谱峰 A(4-羟基-苄基芥子苷)、B(4-羟基苯甲酰胆碱),相应地 TLC 色谱也显示了这一区别;该 2 种方法下,白芥子药材均能检出芥子碱复盐等 3 个主要的斑点(色谱峰),而黄芥子仅能检出芥子碱复盐 1 个主要的斑点(色谱峰),同一品种 2 种方法的检测结果基本一致,2 种方法的对应关系较好。

《中国药典》(2010 年版)收录了以芥子碱为对照品的 TLC 鉴别方法,不能有效地区分黄芥子和白芥子;本研究建立的 2 种方法可以明显、快速地区分黄芥子和白芥子,且 2 种方法重现性好。基于以上比较研究结果,建议将白芥子和黄芥子 2 个品种单列,并在白芥子项下,除芥子碱外,建议将 4-羟基-苄基芥子苷和 4-羟基苯甲酰胆碱同时纳入白芥子药材的质量鉴别标准。以上研究为芥子不同品种质量评价指标的制定提供了可靠线索。

[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] 逢镇,张村,李丽,等. 白芥子及其炮制品的 HPLC 鉴别[J]. 北京中医药大学学报,2008,31(10):699.

[责任编辑 顾雪竹]