

它批次蜂胶中总黄酮含量均 >20.0%，最终规定蜂胶中总黄酮含量(以乔松素计)应不得少于 20.0%。

3 讨论

本文利用现代的薄层色谱技术,确定蜂胶以及蜂胶提取物中的专属性薄层色谱,方法简便易行,为真伪蜂胶的鉴别提供依据。通过多批次蜂胶的性状、一般性检查等实验研究把合格蜂胶定义为:团块状或不规则碎块,呈棕黄色、棕褐色、青绿色或灰褐色,具光泽,10℃以下质脆,30℃以上逐渐变软,气芳香,无异味,味微苦,略涩,有辛辣和微麻感。蜂胶干燥失重不得过 4.0%、总灰分不得过 8.0%、酸不溶性灰分不得过 6.0%、氧化时间不得过 22 s。蜂胶醇浸出物含量 ≥40.0%,铅含量 ≤20 mg/kg,砷含量 ≤1.0 mg/kg,汞含量 ≤0.3 mg/kg,六六六、滴滴涕含量均为 ≤0.05 mg/kg,蜂胶中总黄酮含量(以乔松素计)应不得少于 20.0%。利用先进的分析手段对蜂胶进行检测,建立了系统、全面、科学的质量控制技术,确

保蜂胶质量稳定可控,规范蜂胶的市场秩序。

参考文献

- [1]蒋春红,吕武清,胡棠洪.蜂胶的药理作用研究概况[J].中国医药指南,2011,9(17):42-43
- [2]孟晓英,王玉华,魏春琴.蜂胶药理作用研究概述[J].中国现代药物应用,2010,4(18):245
- [3]王亚群,任永新.蜂胶的化学成分及其保健作用[J].食品与药品,2006,8(12A):75-76
- [4]王浩,张庆乐,徐晓燕,等.蜂胶总黄酮对衰老小鼠学习记忆的影响[J].中国老年学杂志,2009,29(22):2880-2882
- [5]杨明,隋殿军,孙红,等.蜂胶总黄酮抗心肌缺血作用[J].中草药,2006,37(2):253-255
- [6]张波,王东风,王爽.蜂胶总黄酮镇痛作用及其机制研究[J].2005,16(19):1458-1460
- [7]吕武清,文萍,姚剑平,等.蜂胶提取物制备工艺研究[J].中草药,2014,45(6):791-794
- [8]范婷婷,文萍,姚剑平,等.蜂胶总黄酮含量测定方法的探讨[J].中国医药指南,2013,11(13):69-70
- [9]周立东,郭伽,余竟光.北京蜂胶的黄酮类成分[J].中国中药杂志,1999,24(3):162-163

(收稿日期:2015-12-28)

赣产南丹参药材含量测定研究*

任正宇¹ 王小青² 李晶^{2#}

(1 燕京理工学院 2012 级化工与制药 河北三河 065201; 2 江西省中医药研究院 南昌 330046)

摘要:目的:建立南丹参药材的含量测定方法。方法:色谱条件:色谱柱:Dikma Diamonsil C18(2)(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(18:82);流速:1.0 ml/min;检测波长:225 nm;柱温:30℃。结果:丹参素钠在 6.2~775 μg/ml 范围内线性关系良好;加样回收率为 101.82%;RSD 分别为 1.97%。结论:高效液相色谱法(HPLC)操作简单,重现性好,可用于南丹参药材的质量控制。

关键词:南丹参;丹参素钠;丹酚酸 B;高效液相色谱法

中图分类号:R284

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.02.045

南丹参为唇形科植物南丹参 *Salvia bowleyana* Dunn. 的干燥根及根茎,收载于江西省中药材标准 1996 年版和 2014 年版,历代本草中少见记载,本品为地方性习惯用药;南丹参广泛分布于江西、福建、浙江、湖南等省,均为野生品种,江西为主要分布产区之一^[1]。南丹参主要含有总丹参酮、丹参酮 II A、隐丹参酮、丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C、丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、咖啡酸等化学成分^[2-5]。其主要水溶性成分丹参素具有多种药理作用,包括抗炎、抗肿瘤、神经保护、心肌保护、提高免疫力等^[6-7]。前期我院仅对该植物中所含丹酚酸 B 进行了报道^[8],本实验对其所含丹参素进行含量测定研究,并同时进行了丹酚酸 B 的测定。现报道如下:

1 仪器与试剂

Waters-1525 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Simplicity™ 个人型超纯水系统(Millipore 公

司),CQ-250 超声波清洗仪(上海船舶电子设备研究所),AG-135 电子天平(梅特勒-托利多),AL-204 电子天平(梅特勒-托利多)。南丹参药材:分别来源于江西南昌(2013051301、2013051302、2013061401、2013061402、2013081501);江西德安(2013051303、2013052201);江西婺源(2013051401、2013051402);江西于都(2013060201)。丹参素钠对照品(含量测定用,批号:110855-200405,中国药品生物制品检定所),丹酚酸 B 对照品(批号:110562-200807,中国药品生物制品检定所)。甲醇(色谱纯),乙腈(色谱纯),其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹参素钠的含量测定

2.1.1 色谱条件及专属性的选择 色谱柱:Dikma Diamonsil C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相:甲醇-0.1%磷酸(18:82),流速:1 ml/min;经光

* 基金项目:江西省青年基金资助项目(编号:20142BAB215065)

通讯作者:李晶,E-mail:savon@sina.com

谱测定,丹参素钠在 225 nm 处有最大吸收峰,故测定波长设为 225 nm,柱温:30 ℃。在此条件下,对照品、供试品在约 7 min 的相同时间有一色谱峰。见图 1。

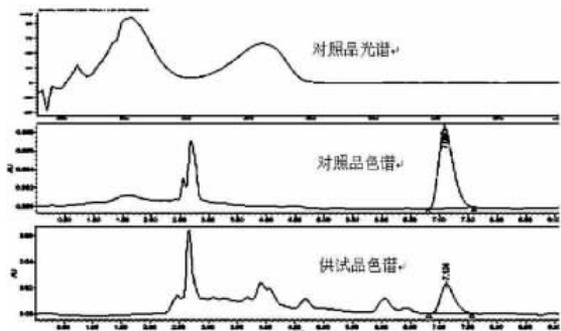


图 1 丹参素钠测定光谱图及色谱图

2.1.2 线性关系的考察 精密称取丹参素钠对照品 7.75 mg,置 10 ml 容量瓶中,加 50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀(每 1 ml 含丹参素钠 775 mg)。分别稀释成以下浓度:775、387.5、155、77.5、46.5、31、12.4、6.2 mg/ml 按上述色谱条件测定,将峰面积对浓度进行回归处理,得回归方程为: $Y=8\ 173\ 609X+54\ 568.5$, $r=0.999\ 8$ ($n=6$),丹参素钠对照品在 6.2~775 mg/ml 范围内峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.1.3 精密度试验 精密吸取丹参素钠对照品溶液 10 μ l,按照精密度试验要求,连续进样 6 次,测定丹参素钠峰面积值,并经统计学处理,RSD 为 1.13%。

2.1.4 稳定性试验 按照上述测定条件,分别在 0、1、2、5、8、12 h,精密吸取南丹参供试品溶液 10 μ l,注入高效液相色谱仪测定每次进样的与丹参素钠相同保留时间的色谱峰峰面积值,经统计学处理,RSD 为 1.61%,结果表明:在 12 h 内供试品溶液中与丹参素钠相同保留时间的色谱峰峰面积值基本保持不变。

2.1.5 重现性试验 取 6 份南丹参药材粗粉约 2.0 g,精密称定,分别置具塞三角瓶中,精密加入 50%甲醇 50 ml,称重,加热回流 1 h,取出,放冷,再次称重,以 50%甲醇补足减失的重量,混匀,滤过,取续滤液过微孔滤膜(0.45 μ m),即得供试品溶液。经测定、计算和统计学处理,6 份从样品的 RSD 为 0.73%,符合重现性试验要求。

2.1.6 加样回收率试验 取 6 份已知含量的南丹参药材粗粉约 1.0 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入含丹参素钠对照品溶液(0.020 318 4 mg/ml) 50 ml,称重,加热回流 1 h,余后同重现性操作,制备

各供试品溶液。同法测定并计算回收率,结果见表 1,6 份回收率测定数据经统计学处理,平均回收率 101.82%,RSD=1.97%。

表 1 回收率测定结果

样号	样品中丹参素钠量(mg)	丹参素钠加入量(mg)	测得丹参素钠量(mg)	回收率(%)
1	1.431 8	1.015 92	2.471 9	102.38
2	1.427 4	1.015 92	2.469 5	102.58
3	1.433 8	1.015 92	2.489 2	103.89
4	1.425 5	1.015 92	2.468 4	102.65
5	1.433 7	1.015 92	2.429 9	98.06
6	1.435 4	1.015 92	2.465 3	101.38

2.1.7 样品测定 取不同产地的南丹参药材粗粉约 2.0 g,精密称定,按上述供试品溶液制备方法操作,分别制备各供试品溶液;同上法测定、计算,结果见表 2。

表 2 不同产地药材中丹参素钠的测定结果(n=2)

批号	含量(%)
2013051301	1.135 3
2013051302	0.144 2
2013051303	0.098 1
2013051401	0.133 0
2013051402	0.137 4
2013052201	0.117 3
2013060201	0.092 7
2013061401	0.180 6
2013061402	0.199 4
2013081501	0.146 9

2.2 丹酚酸 B 的含量测定^[8]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Dikma Diamonsil C18 柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m),流动相:甲醇:乙腈:1.5%甲酸(17:15:68),流速:1 ml/min,检测波长 286 nm,柱温:30 ℃。在此条件下,对照品、供试品在约 14 min 的相同时间有一色谱峰。

2.2.2 对照品溶液制备 取丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加 50%甲醇制成每 1 ml 含 0.14 mg 的溶液,即得。

2.2.3 样品测定 取不同产地的南丹参药材粗粉,称取约 0.2 g,精密称定,分别置 50 ml 量瓶中,加入 50%甲醇至近刻度,超声提取 30 min,取出,放冷,以 50%甲醇补足减失的重量,混匀,滤过,取续滤液过微孔滤膜(0.45 μ m),即得供试品溶液。同上法测定、计算,结果见表 3。

表 3 不同产地药材中丹酚酸 B 的测定结果(n=2)

批号	含量(%)
2013051301	3.23
2013051302	3.48
2013051303	1.88
2013051401	2.40
2013051402	2.48
2013052201	2.52
2013060201	1.52
2013061401	5.02
2013061402	4.88
2013081501	3.28

医药物治疗的费用昂贵、副作用较大,探讨中医药治疗 AIH 也不失为一种好的治疗方法,且也取得了不少成果。无论中、西医治疗,目前的疗效主要是控制患者的病情、减轻患者的痛苦为主,临床上想要彻底治愈 AIH,特别是疑难患者,仍有待进一步研究探讨。

参考文献

- [1]Manns MP,Czaja AJ,Gorham JD,et al.Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J].Hepatology,2010,51(6):2193-2213
- [2]Kaplan MM,Bonder A,RuthazerR,et al.Methotrexate in patients with primary biliary cirrhosis who respond incompletely to treatment with ursodeoxycholic acid[J].Dig Dis Sci,2010,55(11):3207-3217
- [3]Chapman R,Feverly J,Kaloo A,et al.Diagnosis and Management of primary sclerosing cholangitis[J].Hepatology,2010,51(2):660-678
- [4]Bumevieh EZ,Lopatkina TN.System manifestations of primary biliary cirrhosis[J].Klin Med (Mosk),2006,84(12):42-46
- [5]Johnson PJ,McFalfane IG.Meeting report:International autoimmune hepatitis group[J].Hepatology,1993,18(4):998-1005
- [6]Alvarez F,Berg PA,Bianchi FB,et al.International Autoimmune Hepatitis Group Report:review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis[J].J Hepatol,1999,31(5):929-938
- [7]Hennes EM,Zeniya M,Czaja AJ,et al.Simplified criteria for the Diagnosis of autoimmune hepatitis [J].Hepatology,2008,48 (1): 169-176
- [8]张学兰.吗替麦考酚酯治疗难治性自身免疫性肝病疗效观察[J].肝脏,2014,19(4):281-282
- [9]柴梅,徐菁,马英,等.复方甘草甜素治疗自身免疫性肝炎 32 例[J].山东医药,2013,53(36):102-103
- [10]谢鹰.肝水解肽治疗自身免疫性肝炎的疗效观察[J].临床合理用药,2011,4(12B):61
- [11]马红,段维佳.辅助用药在自身免疫性肝病中的应用[J].中华肝脏

- 病杂志,2011,19(3):234-235
- [12]孙颖.中医辨治自身免疫性肝炎浅析[J].实用中医内科杂志,2011,25 (5):77-78
- [13]张丽.中医辨证治疗自身免疫性肝炎的临床观察[D].湖北中医药大学,2012
- [14]朱常江,吴镇印,叶映月.中西医结合治疗自身免疫性肝炎的临床观察[J].中国中医急症,2015,24(1):173-175
- [15]宋爱军,于培龙,王东风.中西医结合治疗自身免疫性肝炎 30 例临床观察[J].河南中医,2012,32(11):1456-1457
- [16]赵景峰,崔丽安,施伯安,等.滋肾柔肝方配合常规西药治疗自身免疫性肝炎 48 例临床观察[J].河北中医,2011,33(5):712-714
- [17]钱程亮.金实诊治自身免疫性肝炎的经验[J].江苏中医药,2010,42 (4):25
- [18]李正富,王新昌,范永升.范永升教授治疗自身免疫性肝病经验探析[J].浙江中医药大学学报,2013,37(4):385-387
- [19]傅红卫,金毓莉,张蕾,等.疏肝补肾化痰法治疗自身免疫性肝炎 34 例临床观察[J].河北中医,2012,34(2):198-199
- [20]李培根.愈黄方治疗自身免疫性肝炎 40 例临床观察[J].中医临床研究,2013,5(6):75-76
- [21]郭文强.中西医结合治疗自身免疫性肝炎 24 例临床观察[J].医药前沿,2013,3(18):152
- [22]王笃桂,刘丹,周波,等.中西医结合治疗自身免疫性肝炎 30 例临床观察[J].实用中西医结合临床,2010,10(1):20-21
- [23]王洪斌.中西医结合治疗自身免疫性肝炎的临床效果观察[J].中国实用医药,2014,9(24):130-131
- [24]王艳丽,吴东.中西医结合治疗自身免疫性肝炎临床观察[J].湖北中医杂志,2013,35(11):18-19
- [25]Strassburg CP.Autoimmune hepatitis [J].Best Practice Research Clinical Gastroenterology,2010,24(5):667-682
- [26]Czaja AJ,Manns MP.Advances in the diagnosis,pathogenesis,and management of autoimmune hepatitis[J].Gastroenterology,2010,139 (1):58-72

(收稿日期:2015-08-22)

(上接第 84 页)

3 讨论

在丹参素的测定研究中,分别比较了超声与回流,50%乙醇、乙醇、50%甲醇和甲醇为溶剂,25、50、75 ml 不同溶剂用量以及提取 1、2、3 h,结果表明,南丹参中丹参素的提取以 50%甲醇 50 ml 回流提取 1 h 效果最佳。

根据不同产地南丹参药材中丹参素钠和丹酚酸 B 的含量测定结果分析发现,该二种成分均以南昌产地为最高,婺源产地次之,于都产地最低。此外,我们分别比较了同一产地不同采收季节南丹参中两成分的含量,结果显示 6 月采集样本该两种成分含量明显高于 5、8 月采集样本的含量,并且 5、8 月样本含量无显著差异,分析可能由于 4~5 月南丹参处于花期,植株营养趋于地上部分,6~7 月其地上部分开始进入枯萎期,此时相应的营养进入地下根部,因而成分集中且较高,而到 8 月份地上又开始萌发新芽,地下根部的养分再次转移到地上,从而使相应成

分的含量有所下降;这个结论与根茎类药材采收期“多为秋季采收”(地上部分枯萎前)相符。但是,由于采样的局限性,此两种含量与采收季节相关性还有待进一步研究。

参考文献

- [1]江西省食品药品监督管理局.江西省中药材标准(2014 年版)[M].上海:上海科技出版社,2014.230
- [2]中国医学科学院药物研究所.中药志(第一册)[M].北京:人民卫生出版社,1959.339
- [3]国家中医药管理局.中华本草(上册)[M].上海:上海科学技术出版社,1999.1652
- [4]李静,黎莲娘,宋万志.南丹参化学成分研究[J].中草药,1994,25(7): 347-349
- [5]沈建芳,王强,汪红.南丹参化学成分研究[J].中国野生植物资源, 2006,25(2):55-58
- [6]周茂金,苏美英,刘昌孝.丹参素研究进展[J].中草药,2003,34(10): 24-25
- [7]袁恒杰.丹参素药理作用研究新进展[J].中国医院药学杂志,2006,26 (5):604-606
- [8]刘丹,余良忠,文萍.HPLC 法测定南丹参中丹酚酸 B 的含量[J].辽宁中医杂志,2011,38(9):1872-1873

(收稿日期:2016-01-09)