

花生衣药材质量标准研究

崔业波, 程焱, 马晓静, 赵艳* (四平市食品药品检验所, 吉林 四平 136000)

摘要: 目的 建立花生衣药材质量标准。方法 采用性状、显微鉴别法对该药材性状、显微特征进行描述; 按照中国药典 2015 年版方法对水分、总灰分、酸不溶灰分进行测定; 采用 TLC 定性鉴别; 采用 HPLC 测定儿茶素的含量, Sepax BR-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 乙腈-水(10 : 90)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 280 nm。结果 花生衣显微特征明显, 专属性良好; TLC 斑点清晰, 分离度良好; 水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物、儿茶素的平均值分别为 8.97%, 6.0%, 0.08%, 23.7%, 0.158%。含量测定儿茶素与相邻峰完全分离, 线性关系良好, 加样回收率($n=6$)为 106%, RSD 为 1.7%。结论 建立的方法可用于花生衣药材的质量控制。

关键词: 花生衣; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 儿茶素

中图分类号: R965.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)18-2196-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.18.004

引用本文: 崔业波, 程焱, 马晓静, 等. 花生衣药材质量标准研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(18): 2196-2200.

Research on Quality Standards of Testa Arachis

CUI Yebo, CHENG Yan, MA Xiaojing, ZHAO Yan* (Siping City Institute for Food and Drug Control, Siping 136000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish quality standards of Testa Arachis. **METHODS** Character and microscopic identification methods were adopted to observe morphological and histological characters. The moisture, total ash and acid-insoluble ash were determined according to the method of Chinese Pharmacopoeia 2015. TLC was used for qualitative identification. HPLC was used to determine the content of catechin, Sepax BR-C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm), acetonitrile-water(10 : 90) as mobile phase, flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was 30 °C, and the detection wavelength was 280 nm. **RESULTS** Testa Arachis had obvious microscopic characteristics and good specificity. TLC with clear spots and good separation. The average contents of water, total ash, acid insoluble ash content, extract and catechin constituent were 8.97%, 6.0%, 0.08%, 23.7% and 0.158%, respectively. In the assay, the catechin was completely separated from the adjacent peaks, and the linear relationship was good. The sample recovery rate($n=6$) was 106%, and the RSD was 1.7%. **CONCLUSION** The established method can be used for the quality control of Testa Arachis..

KEYWORDS: Testa Arachis; TLC; HPLC; catechin

花生衣为豆科植物落花生 *Arachis hypogaea* L. 的成熟种子的种皮, 始载于《全国中草药汇编》, 多为加工油料或制作食品时收集的种皮, 晒干即可。花生衣药性味甘、微苦、涩, 性平, 功能有凉血止血、散瘀, 主治血友病, 类血友病, 血小板减少性紫癜, 手术后出血、咳血、咯血、衄血及子宫出血^[1]。目前花生衣被应用到益血生胶囊(国药准字 Z19983056)、复方红衣补血口服液(国药准字 B20020439)和血宁糖浆(国药准字 Z31020156)中, 暂无国家标准, 被列入中国药典 2015 年版成方制剂中本版药典未收录的药材和饮片目录中^[2]。现在仅有上海市、河北省、山东省等制定了花生

衣地方药材质量标准及炮制规范, 各标准又各具地方特色, 如山东省药材标准 2012 年版收载花生衣药材名为花生红衣, 实则同物异名, 来源均为豆科植物落花生的成熟种皮; 因此严重影响了花生衣药材使用和质量控制。本研究以吉林省内药材为基础, 以中国食品药品检定研究院提供的标准物质花生红衣对照药材和儿茶素对照品为对照, 从药材性状、鉴别及含量等方面, 进行了系统的研究, 为该药材的质量标准的规范提供参考。

1 仪器与材料

BX51 型显微镜(奥林巴斯公司); 岛津 LC-2010AHT 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器

基金项目: 吉林省中药材地方标准制修订项目(JLZYC-2018-007)

作者简介: 崔业波, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0434)3099011
Tel: (0434)3099066 E-mail: 945473345@qq.com

E-mail: cuiyebo@163.com *通信作者: 赵艳, 女, 硕士, 主任药师

SPD-M20A(日本岛津公司); Agilent1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); BP211D 型电子天平(赛多利斯公司)。

乙腈[色谱纯, 赛默飞世科技(中国)有限公司], 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。硅胶 G 预制薄层板(青岛海洋化工有限公司, 批号: 20160403); 花生红衣对照药材(批号: 121491-201202)、儿茶素对照品(批号: 110703-201530; 纯度: 91.7%)均购自中国食品药品检定研究院; 24 批花生衣药材均为市售和产地收集, 由吉林农业大学包海鹰教授检定。

2 方法与结果

2.1 性状

本品呈极薄的碎片状, 大小不一。外表面粉红色、红色或深红色, 具有纵向皱棱; 内表面浅黄棕色或黄白色, 脉纹明显。质轻易碎。气微, 味涩, 微苦。见图 1。

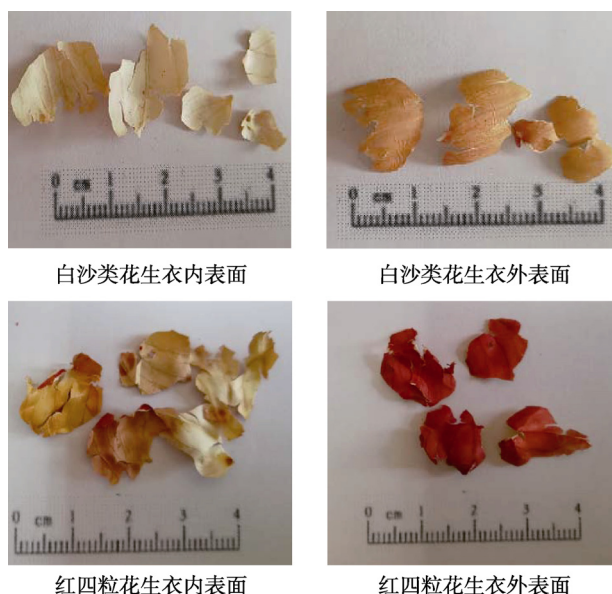


图 1 花生衣药材

Fig. 1 Crude drug material of Testa Arachis

2.2 显微特征鉴别

本品粉末微红色至深红色。种皮细胞顶面观呈多角形, 壁条状增厚, 条纹有的长达细胞中心, 有的内含黄棕色物。种皮细胞底面观呈类方形、圆形、类长方形, 其外缘被有角质层。薄壁细胞淡黄色, 壁呈波浪状, 有的含淡黄色物。环纹导管或螺纹导管。见图 2。

2.3 薄层色谱鉴别

2.3.1 供试品、对照药材及对照品溶液的制备 取本品粉末(过 2 号筛)1.0 g, 加甲醇 30 mL, 超声

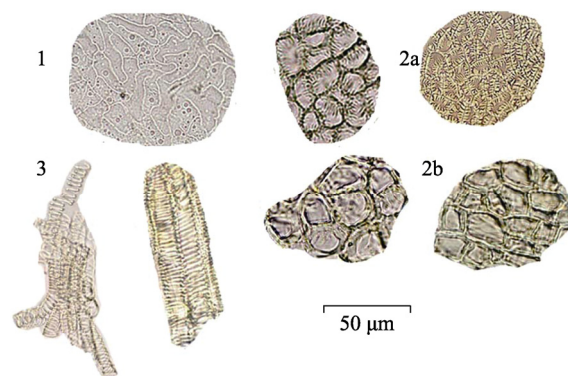


图 2 花生衣粉末显微图

1-薄壁细胞; 2-种皮细胞(a.顶面观; b.底面观); 3-导管。

Fig. 2 Micrograph of Testa Arachis powder

1-parenchyma cells; 2-testa cells(a.surface view; b.bottom seface view); 3-vessels.

处理 30 min 放冷至室温, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。另取花生红衣对照药材 1.0 g, 同法制成对照药材溶液。再取儿茶素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3.2 薄层色谱条件及结果 照薄层色谱法(中国药典 2015 年版四部通则 0502)试验, 吸取上述对照药材溶液 20 μ L, 供试品溶液和对照药材溶液各 10~20 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷-甲醇-甲酸(4:1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 至斑点显色清晰, 置日光下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 分别显相同颜色的斑点。结果见图 3~5。

2.4 检查^[3-5]

2.4.1 总灰分 按照灰分测定法(中国药典 2015 年版四部 通则 2302)项下的总灰分测定方法, 测定本品 24 批, 结果在 2.7%~9.6% 内。结果见表 1。

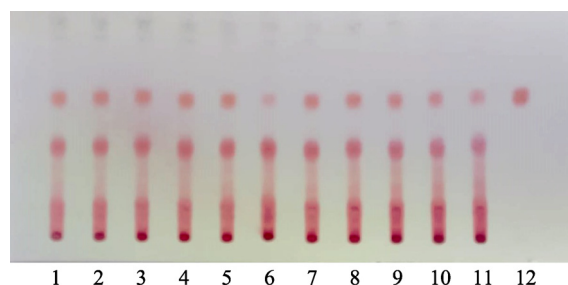


图 3 花生衣药材(白沙类)、花生红衣对照药材及儿茶素 TLC 图谱

1~5, 7~11-供试品(白沙类样品 1~10 号)(10 μ L); 6-花生衣对照药材(20 μ L); 12-儿茶素对照品(10 μ L)。

Fig. 3 TLC of the pink Testa Arachis medicinal materials, Testa Arachis and catechin

1~5, 7~11-test samples(the pink Testa Arachis lot No: 1~10) (10 μ L); 6-reference drug of Testa Arachis(20 μ L); 12-catechin reference substance (10 μ L)。

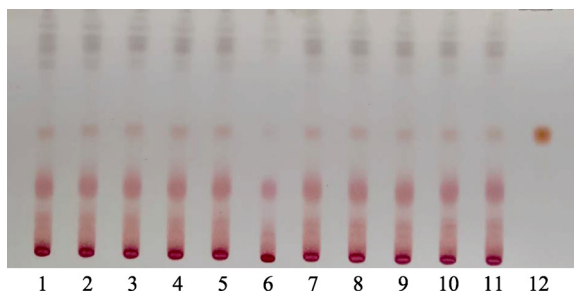


图4 花生衣药材(红四粒类)、花生红衣对照药材及儿茶素 TLC 图谱

1~5, 7~11-供试品(红四粒样品 11~20 号)(20 μ L); 6-花生红衣对照药材(20 μ L); 12-儿茶素对照品(10 μ L)。

Fig. 4 TLC of the purplish red Testa Arachis medicinal materials, Testa Arachis and catechin

1~5, 7~11-test samples(the purplish red Testa Arachis lot No: 11~20) (20 μ L); 6-reference drug of Testa Arachis(20 μ L); 12-catechin reference substance(10 μ L).

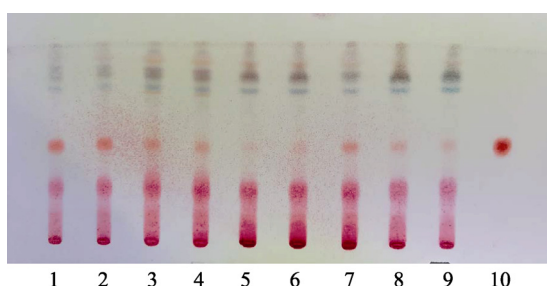


图5 花生衣药材、花生红衣对照药材及儿茶素 TLC 图谱

1~2-供试品(白沙类样品 1~2 号)(10 μ L); 3~4-供试品(红四粒类样品 11~12 号)(20 μ L); 5-花生红衣对照药材(20 μ L); 6~9-供试品(其他类样品 21~24 号)(20 μ L); 10-儿茶素对照品(10 μ L)。

Fig. 5 TLC of Testa Arachis medicinal materials, Testa Arachis and catechin

1~2-test samples(pink Testa Arachis lot No: 1~2)(10 μ L); 3~4-test samples(the purplish red Testa Arachis lot No: 11~12)(20 μ L); 5-reference drug of Testa Arachis(20 μ L); 6~9-test samples(other samples lot No: 21~24)(20 μ L); 10-catechin reference substance(10 μ L).

2.4.2 酸不溶性灰分 按照灰分测定法(中国药典 2015 年版四部通则 2302)项下的酸不溶性灰分测定方法,测定本品 24 批,结果在 0.01%~0.16%内。结果见表 1。

2.4.3 水分 按照水分测定法(中国药典 2015 年版四部通则 0832 第二法)烘干法,测定本品 24 批,结果在 7.45%~11.38%内。结果见表 1。

2.5 浸出物

按照浸出物测定法(中国药典 2015 年版四部通则 2201)项下的浸出物测定方法,以乙醇为溶剂,采用热浸法,测定本品 24 批,结果在 16.3%~33.4%内。结果见表 1。

2.6 HPLC 含量测定

2.6.1 色谱条件 采用 Sepax BR-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m),流动相为乙腈-水(10 : 90);流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}$ C,检测波长

280 nm,进样量 10 μ L,理论板数按儿茶素峰计算应 $\geq$ 3 000。

2.6.2 供试品溶液的制备 取本品样品粉末(过 3 号筛)约 1 g,精密称定,加入 50%甲醇溶液 20 mL,并称定重量,超声(500 W, 40 Hz)处理 30 min,后迅速冷却至室温,再用 50%甲醇补充减失重量,摇匀,离心取上清液,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.6.3 对照品溶液的制备 精密称取儿茶素对照品(10.66 mg),置 25 mL 的量瓶中,用 50%甲醇溶解并稀释至刻度,再精密量取 1 mL,置 25 mL 的量瓶中,用 50%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀滤过,作为对照品溶液。

2.6.4 系统适用性试验 精密吸取供试品和对照品溶液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪中,记录色谱图。结果表明,儿茶素色谱峰理论板数 $\geq$ 3 000,峰形对称,且与各杂质峰分离度良好,见图 6。

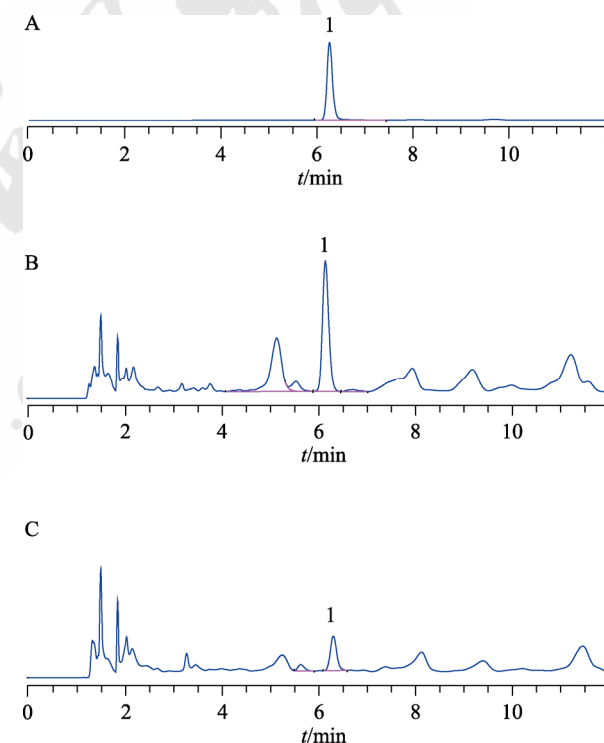


图6 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-花生衣(白沙类)供试品溶液; C-花生衣(红四粒类)供试品溶液; 1-儿茶素。

Fig. 6 HPLC chromatograms

A-reference solution; B-sample solution(the pink Testa Arachis); C-sample solution(the purplish red Testa Arachis); 1-catechin.

2.6.5 线性关系的考察 取儿茶素对照品适量,用 50%的甲醇溶液,溶解并稀释制成每 1 mL 含 21.150, 42.299, 84.598, 169.196, 253.793, 338.391 μ g 的系列对照品溶液。分别精密量取上述

表 1 样品信息及儿茶素含量结果($n=2$)

Tab. 1 Sample information and determination results of catechin($n=2$)

序号	采集编号	来源	品种类型	总灰分	酸不溶灰分	浸出物	水分	儿茶素含量 %
1	HSY-1	吉庆花生筛选厂(四平市)	白沙	5.2	0.10	23.5	8.36	0.316
2	HSY-2	吉庆花生筛选厂(四平市)	白沙	5.1	0.02	23.4	8.14	0.320
3	HSY-3	吉庆花生筛选厂(四平市)	白沙	4.4	0.01	23.6	7.51	0.353
4	HSY-4	花生米筛选厂(双辽市)	白沙	4.2	0.01	33.2	7.45	0.319
5	HSY-5	花生米筛选厂(双辽市)	白沙	5.5	0.06	33.4	8.11	0.342
6	HSY-6	花生米筛选厂(双辽市)	白沙	4.6	0.10	33.0	8.19	0.354
7	HSY-7	花生米筛选厂(铁岭市)	白沙	7.3	0.08	24.3	8.11	0.189
8	HSY-8	花生米筛选厂(铁岭市)	白沙	7.5	0.10	23.5	8.23	0.202
9	HSY-9	花生米筛选厂(铁岭市)	白沙	8.0	0.06	22.9	8.32	0.200
10	HSY-10	花生米筛选厂(铁岭市)	白沙	7.2	0.07	24.1	8.25	0.195
11	HSY-11	花生筛选厂(松原市)	红四粒	6.3	0.03	16.5	8.29	0.086
12	HSY-12	花生筛选厂(松原市)	红四粒	6.3	0.02	16.4	9.45	0.090
13	HSY-13	花生筛选厂(松原市)	红四粒	6.4	0.15	16.6	8.43	0.094
14	HSY-14	吉庆花生筛选厂	红四粒	9.2	0.14	16.5	9.88	0.092
15	HSY-15	吉庆花生筛选厂	红四粒	9.6	0.11	20.3	9.03	0.094
16	HSY-16	吉庆花生筛选厂	红四粒	6.7	0.08	20.9	9.45	0.099
17	HSY-17	花生筛选厂(双辽市)	红四粒	7.3	0.09	19.8	9.45	0.048
18	HSY-18	花生筛选厂(双辽市)	红四粒	6.2	0.12	17.2	9.78	0.048
19	HSY-19	花生筛选厂(松原市)	红四粒	7.2	0.12	16.3	11.38	0.053
20	HSY-20	花生筛选厂(松原市)	红四粒	7.6	0.16	17.3	9.14	0.131
21	HSY-21	吉林某药业有限公司	—	2.9	0.11	32.1	10.05	0.039
22	HSY-22	吉林某药业有限公司	—	3.0	0.08	31.5	9.72	0.034
23	HSY-23	网购	—	2.7	0.01	32.8	9.38	0.049
24	HSY-24	山东某制药有限公司	—	2.9	0.02	28.9	11.25	0.037
平均值				6.0	0.08	23.7	8.97	0.158

溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪中, 以溶液浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 进行线性回归, 得线性方程 $Y=5.983\ 9X-17.062\ 4$, $R^2=0.999\ 8$ 。

2.6.6 重复性试验 取同一批药材(编号:HSY-1)6 份, 按“2.6.2”项下供试品溶液制备方法和“2.6.1”项下色谱条件进行分析, 结果儿茶素平均含量为 0.29%, RSD 为 1.4%。

2.6.7 稳定性试验 取同一供试品溶液按照“2.6.1”项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h, 精密量取 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以儿茶素峰面积考察溶液稳定性, 结果显示峰面积的 RSD 为 0.8%。

2.6.8 回收率试验 精密称取已知含量同一批药材(编号:HSY-1)粉末(过 3 号筛)约 1 g, 共 6 份; 对照品的加入量按照 1:1 加入, 按“2.6.2”项下方法制备, 按“2.6.1”项下色谱条件进行测定, 结果儿茶素加样回收率为 106%(RSD=1.7%, $n=6$)。

2.6.9 色谱柱耐用性 取同一批药材(编号:

HSY-1), 按照“2.6.2”项下供试品溶液制备方法, 处理 2 份供试品溶液; 按“2.6.1”项下色谱条件, 分别用不同色谱柱 Sepax BR- C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm)、InfinityLab Poroshell 120 EC- C_{18} (4.6 mm $\times$ 150 mm, 4 μm)、ZORBAX Eclipse XBD- C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm)进样分析, 儿茶素的含量依次为 0.28%, 0.28%和 0.27%, 结果表明该方法耐用性良好。

2.6.10 样品测定 取上述 24 批次药材, 按照“2.6.2”项下供试品溶液处理方法处理, 按照“2.6.1”项下色谱条件进行含量测定, 样品中儿茶素的含量见表 1, 儿茶素含量范围为 0.034%~0.354%。

3 讨论

3.1 含量测定

本研究参考大量有关花生衣药材的文献及标准^[6-10], 报道的与其止血相关的化学成分主要为二聚原花生色苷元-A 类型化合物, 而《全国中草药

汇编》记载花生衣中含有花生素,为二聚原花生色苷元-A 类型化合物;*D*-(+)-儿茶素为花生衣止血有效成分^[11-13];因此,本研究将儿茶素定为含量控制指标。通过上述试验数据可知,由吉林生产的白沙类花生衣中,其儿茶素含量较高,含量在 0.189%~0.354%,而红四粒类花生衣中,含量在 0.048%~0.131%;吉林省药业提供的样品含量为 0.039%和 0.034%,网上购买样品含量为 0.049%,山东某药业提供样品含量为 0.037%。可见,花生衣药材不同来源及不同品种,儿茶素含量差异加大。笔者参观了吉林省内的花生米筛选厂,其多采用春节前后低温低湿的自然条件,生脱皮的方式获得,并且品系分开;而山东省和安徽省的花生衣,多采用为瞬间高温再快速脱皮,然后再迅速降温的工艺获得,可见,不同的加工方式也是影响儿茶素含量的重要因素。

3.2 显微特征

本研究比较了不同来源和不同品系的花生衣药材显微特征,其中导管与薄壁细胞差别不大,种皮细胞的顶面观,在不同来源的药材中有一定差异,例如:白沙种皮细胞较大,多为类长方形,细胞壁条状增厚,较红四粒类样品短;红四粒样品种皮细胞较小,多为类方形,其条状增厚长达细胞中间;并且,种皮细胞底面观也同样存在差异,白沙类药材种皮细胞底面观多成类长方形,而红四粒类多成类圆形;其他样品的特征与白沙类样品相似。

3.3 薄层色谱鉴别

笔者参考相关文献及省外地方标准^[14-15],充分考察薄层鉴别中供试溶液的制备方法:①水提取,直接乙酸乙酯萃取/盐酸酸化后乙醚萃取;②甲醇超声提取与回流提取。结果表明,甲醇超声提取方法,明显优于其他操作方法。并同时考察了展开剂二氯甲烷-石油醚-甲醇-乙酸(8:3:1:2)、二氯甲烷-甲醇-甲酸(4:1:1)和显色剂(10%硫酸乙醇溶液、5%香草醛硫酸溶液)的薄层色谱效果,表明以二氯甲烷-甲醇-甲酸(4:1:1)为展开剂,5%香草醛硫酸溶液为显色剂,获得的斑点清晰,斑点分离度良好。

3.4 检查

由表 1 可知,水分的平均值为 8.97%,总灰分的平均值 6.0%;酸不溶性灰分平均值为 0.08%;浸出物平均值为 23.7%;由于花生衣为落花生加

工过程获得的生种皮,其加工环境直接影响了其总灰分的含量,本研究所用样品,均通过 2 号筛进行初步的净选,但是仍然可见灰尘吸附于药材表面,因此总灰分检查建议列入正文;水分限度 $\leq 13.0\%$;酸不溶性灰分不建议纳入标准;通过表 1 可知,白沙类样品浸出物明显较高,可能与其显微特征中易见的薄壁细胞中富含的油室有关。

REFERENCES

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典(下册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1474.
- [2] 中国药典. 四部[S]. 2015: 420.
- [3] CUI Y B, MA X J. Research on quality standards of *Ginseng Leptoradix* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(9): 1360-1364.
- [4] ZHANG C, JIN X, CHEN Y Q, et al. Exploratory reaserch on the quality control of *Stachyuri Medulla Helwingiae Medulla* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(11): 1408-1413.
- [5] LUAN J, WEI X S, DING Q. Establishment and study on the quality standard of *Salvia Plebeia* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(8): 1020-1024.
- [6] DU L, LI X H. Analysis of proanthocyanidins in black and red peanut skins [J]. Food Sci(食品科学), 2014, 35(4): 190-194.
- [7] YAN D, ZHAO C B, XIE D S, et al. The exploitation and utilization of peanut coat [J]. Asia - Pac Tradit Med(亚太传统医药), 2015, 11(20): 51-54.
- [8] HU B H. Study of simultaneous determination methods of the content of four components in peanut skin by HPLC [J]. J New Chin Med(新中医), 2018, 50(5): 15-18.
- [9] PEI Y Y. HPLC analysis of polyphenols and content determination of epicatechin and catechin in peanut skins [J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2018, 39(5): 141-146.
- [10] PEI Y Y. Analysis way of polyphenol in white and red peanut skin and the extraction technology optimization [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2015, 43(30): 221-224.
- [11] 谢宗万. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 289-290.
- [12] WANG J L, QU L, RUAN J Y, et al. Study on the constituents of *Arachis hypogaea* Linn [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med(天津中医药大学学报), 2019, 38(2): 175-179.
- [13] LIU B J, WANG C X, WANG C, et al. Research progress about pharmacological activity affecting platelet formation of peanut skin [J]. China Mod Med(中国当代医药), 2019, 26(21): 24-26.
- [14] 张瑛. 花生衣多酚的提取、纯化及其活性研究[D]. 太原: 山西大学, 2016.
- [15] LIAO Z Z, DENG J G, LI J, et al. Study on quality standard of Shenghong Granules [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 2016, 25(3): 14-16.

收稿日期: 2019-12-08

(本文责编: 沈倩)