

壮药拟草果中 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮 候选化学对照品的制备及其质量控制研究*

赖克道, 柴玲**, 陈明生, 冯军, 袁健童, 刘布鸣**

(广西壮族自治区中医药研究院 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

摘要 目的: 从壮药拟草果中制备纯化 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮候选化学对照品并建立其质量分析方法。方法: 采用硅胶柱色谱、重结晶和高效制备液相色谱等, 从拟草果中制备纯化得到高纯度的 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮, 通过红外、紫外、核磁共振等综合波谱解析方法及质谱确定其化学结构, 采用薄层色谱法、高效液相色谱法检测色谱纯度, 炽灼残渣法测定灰分, 质量平衡法计算 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮的含量。采用高效液相色谱法对建立的 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮候选化学对照品质量分析方法进行方法学考察。结果: 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮候选化学对照品用高效液相色谱法面积归一化法测定的含量均值为 99.85%, 炽灼残渣法测得灰分值为 0.02%, 以质量平衡法计算的含量为 99.83%。建立的含量测定方法专属性强, 精密度良好。结论: 制备得到的 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮候选化学对照品符合化学对照品的质量标准要求, 可作为拟草果及其他含有此成分的药材与制剂质量控制的对照品。建立的质量分析方法准确、可靠, 可为该对照品质量标准研究与制定提供科学依据。

关键词: 壮药; 拟草果; 3,5 - 二羟基 - 7,4' - 二甲氧基黄酮; 候选化学对照品; 制备纯化; 结构鉴定; 纯度检查; 含量测定

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)02 - 0333 - 07

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024.02.17

Preparation and quality control of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone, a candidate reference substance from Zhuang medicine *Amomum paratsaoko* S. Q. Tong & Y. M. Xia*

LAI Ke - dao, CHAI Ling**, CHEN Ming - sheng,
FENG Jun, YUAN Jian - tong, LIU Bu - ming**

(Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards,
Nanning 530022, China)

Abstract Objective: To study the preparation and quality control of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone candidate chemical reference substance from Zhuang medicine *Amomum paratsaoko* S. Q. Tong & Y. M. Xia.

* 广西自然科学基金青年基金项目(2017GXNSFBA198091), 广西中药质量标准研究重点实验室自主研究课题(桂中重自201803)

** 通信作者 柴玲 Tel:(0771)5883405;E-mail:cicichai001@163.com

刘布鸣 Tel:(0771)5883405;E-mail:liubuming@aliyun.com

第一作者 Tel:(0771)5883405;E-mail:laikedao@163.com

Methods: 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone was separated and purified consecutively by silica gel, recrystallization as well as preparative HPLC. The structure of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone was identified by IR, UV, NMR and other comprehensive spectrum analytical methods with MS spectrum. Its purity was determined by HPLC and TLC, the ash content was determined by incandescent residue method, and the content of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone was calculated by mass balance method. The method for quality analysis of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone candidate reference materials was investigated by HPLC. **Results:** The mean value determined by HPLC of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone was 98.85%, the ash value was 0.02%, and the content of 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone calculated by mass balance method was 99.83%. The established analytical method was specific and precise. **Conclusion:** 3, 5 - Dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone which was prepared in this study met the quality standard requirements of chemical reference substance, and could be used as a reference substance for quality control of medicinal materials and their preparations such as *Amomum paratsaoko* S. Q. Tong & Y. M. Xia and others. The analysis method was accurate and reliable, which provided a scientific basis for the research and formulation of quality standard of this reference substance.

Keywords: Zhuang medicine; *Amomum para - tsaoko* S. Q. Tong & Y. M. Xia; 3, 5 - dihydroxy - 7, 4' - dimethoxyflavone; candidate chemical reference substance; preparation and purification; structural identification; purity test; content determination

化学对照品是中药质量标准研究、质量检测和 quality 控制的实物对照。中药化学对照品的研究,是中药标准化、现代化研究的一个非常重要的部分,对于产品的质量评价,特别是在药品生产的质量控制中,中药化学对照品起着重要的作用,是中药质量控制的基础与核心。目前,部分中药药材及其制剂化学成分不明或无化学对照品,无法阐明其作用和化学物质基础,则无法进行有效的质量控制研究,难以进入国际药品市场,对中药发展形成了阻碍。因此,开展中药化学对照品研究,制备高纯度的化学对照品并对其进行质量标准规范化研究,是中药现代化发展的必由之路,对于推进中药标准化具有较高的学术价值和重要的现实意义^[1]。

3, 5 - 二羟基 - 7, 4' - 二甲氧基黄酮是黄酮醇类化学成分,存在于姜科^[2-6]、菊科^[7-8]、唇形科^[9]、桦木科^[10]、蔷薇科^[11]、凤仙花科^[12]、伞序蕨科^[13]等多种植物中,具有较好的抗菌作用^[14]。课题组前期研究发现,3, 5 - 二羟基 - 7, 4' - 二甲氧基黄酮是壮药拟草果 (*Amomum paratsaoko* S. Q. Tong & Y. M. Xia) 的主要活性成分之一^[15-16],在拟草果药材中的含量约为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ^[17],可作为药材及其制剂的指标性成分。目前尚未有相应的国家药品标准物质规定,国内外对 3, 5 - 二羟基 - 7, 4' - 二甲氧基黄

酮作为中药化学对照品的系统研究也未见报道。

本研究以姜科豆蔻属植物拟草果果实为原料,提取分离得到 3, 5 - 二羟基 - 7, 4' - 二甲氧基黄酮,对 3, 5 - 二羟基 - 7, 4' - 二甲氧基黄酮的候选化学对照品进行制备纯化和质量控制研究,为其作为中药化学对照品以及含有此成分的药材和制剂的质量标准研究与制定提供科学基础和保证。制备出的 3, 5 - 二羟基 - 7, 4' - 二甲氧基黄酮还可用于开展药理活性研究,对研制新药和开发其他医药用途具有重要意义。

1 仪器与试药

Agilent 1260 高效液相色谱仪(安捷伦公司); Waters 2545 - 2767 - 2489 高效制备液相色谱仪(沃特世公司); DHG9246A 立式电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); XS205 十万分之一电子天平(梅特勒 - 托利多公司); Bruker Dre - 400 MHz 核磁共振仪、Bruker TENSOR 27FTIR(布鲁克公司); SHB - III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工有限公司); CA1115A 冷却水循环装置(上海爱朗仪器有限公司); EV311 旋转蒸发仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司); UV - 2550 型紫外光谱仪[岛津(上海)实验器材有限公司]; TENSOR 27 红外光谱仪(布鲁克公司); Thermofisher QExactive FOCUS 液质联用色谱仪(赛默飞世尔科技公司); Ecosil C₁₈ Extend 半制备色谱柱

(250 mm × 10 mm, 5 μm) (广州绿百草科学仪器有限公司); Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (安捷伦公司); Waters XBridge RP-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (沃特世公司); Thermofisher Hypersil GOLD 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (赛默飞公司); 硅胶 G 板 (青岛海洋化工有限公司)。

薄层色谱及提取分离用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、甲醇等试剂均为分析纯 (广东光华科技股份有限公司); 液相甲醇、乙腈为色谱纯 (赛默飞世尔科技公司); 水为超纯水。3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮由实验室分离纯化得到, 纯度 > 98%。

拟草果果实于 2017 年 9 月采集于广西那坡, 经广西中医药研究院中药资源研究所黄云峰副研究员鉴定为姜科豆蔻属植物拟草果 (*Amomum paratsaoko* S. Q. Tong & Y. M. Xia)。

2 方法与结果

2.1 候选化学对照品的制备

取干燥拟草果果实 10 kg, 粉碎, 用甲醇冷浸提取 3 次, 每次加入甲醇 100 L, 浸泡 7 d, 滤过, 合并滤液, 回收甲醇, 得甲醇提取浸膏 480 g。甲醇提取浸膏用 1 L 水分散后, 再经 5 倍体积的石油醚 (60 ~ 90 °C)、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取, 每个溶剂萃取 4 次, 静置, 合并有机相层, 减压回收溶剂, 得到石油醚萃取物 (35 g)、乙酸乙酯萃取物 (163 g)、正丁醇萃取物 (62 g)。乙酸乙酯萃取物经硅胶柱色谱 (200 ~ 300 目), 用石油醚-乙酸乙酯 (30:1 ~ 0:100) 梯度洗脱, 收集石油醚-乙酸乙酯 (3:1) 洗脱含 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的流分, 薄层色谱 (TLC) 检测合并, 浓缩, 重结晶, 就得到 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的粗结晶 (4.0 g)。

粗结晶采用高效制备液相色谱 [Ecosil C₁₈ Extend 半制备色谱柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm), 甲醇-水 (85:15), $t_R = 17.0$ min] 进行制备纯化, 收集含 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮流分, 经高效液相色谱检测 [Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (80:20), 流速 5.0 mL · min⁻¹], 合并相同保留时间且纯度 > 98% 以上的流分, 减压浓缩, 真空干燥后得到纯度 > 98% 以上的 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品 (3.0 g), 从药材中制得率约为 0.03%。

2.2 对照品结构确证

制备所得候选化学对照品为黄色针状结晶 (甲醇), 溶于乙酸乙酯、氯仿、丙酮、乙醇、甲醇, 不溶于水。UV (CH₃OH) λ_{max} : 350 nm。νKBr_{max} (cm⁻¹): 3 310 (-OH); 1 658 (C=O); 1 594、1 555、1 455、1 417 (苯环); 1 259、1 154 (C-O-C); 879、833 (取代基)。HR-ESI-MS m/z : 315.085 24 [M+H]⁺ (理论值: 315.086 86, C₁₇H₁₅O₆), 推导其分子式为 C₁₇H₁₄O₆。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 12.43 (1H, s, 5-OH), 9.65 (1H, s, 3-OH), 8.17 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 7.11 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.74 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.34 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 3.86 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.84 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 176.0 (C-4), 164.7 (C-7), 160.3 (C-8a), 160.1 (C-5), 155.9 (C-4'), 146.4 (C-2), 136.3 (C-3), 129.1 (C-2', 6'), 123.0 (C-1'), 113.8 (C-3', 5'), 103.9 (C-4a), 97.3 (C-6), 91.8 (C-8), 55.8 (7-OCH₃), 55.2 (4'-OCH₃)。以上述数据与文献^[8,10]报道基本一致, 故确证该化合物为 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮, 化学结构式见图 1。

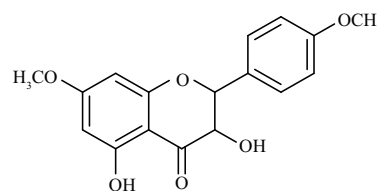


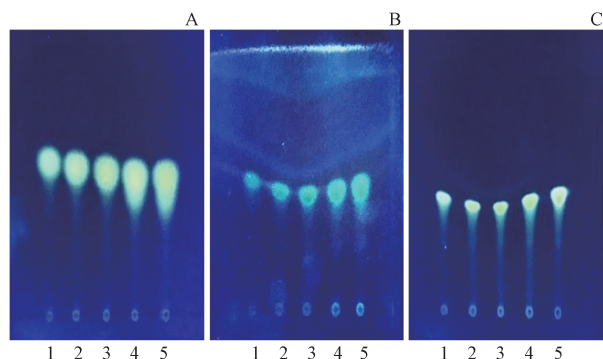
图 1 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的化学结构

Fig. 1 The chemical structure of 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone

2.3 纯度检查

2.3.1 薄层色谱纯度检查 取 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品适量, 精密称量, 用甲醇制成 100 μg · mL⁻¹ 的溶液, 在同一硅胶 G 板上, 按不同的点样量梯度点样, 点样量分别为 2、4、6、8、10 μg (图 2 中依次为 1 ~ 5)。分别用石油醚-丙酮-冰醋酸 (4:1:0.1)、石油醚-乙酸乙酯-冰醋酸 (6:1:0.1) 和环己烷-三氯甲烷-冰醋酸 (3:1:0.3) 3 个系统展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 三氯化铝溶液显色, 置紫外灯 (365 nm) 下观察。在 3 种不同系统溶剂中的 5 个不同点样量浓度的薄层

色谱中,均为单一的黄绿色荧光斑点,无其他杂质斑点,薄层色谱图见图2。

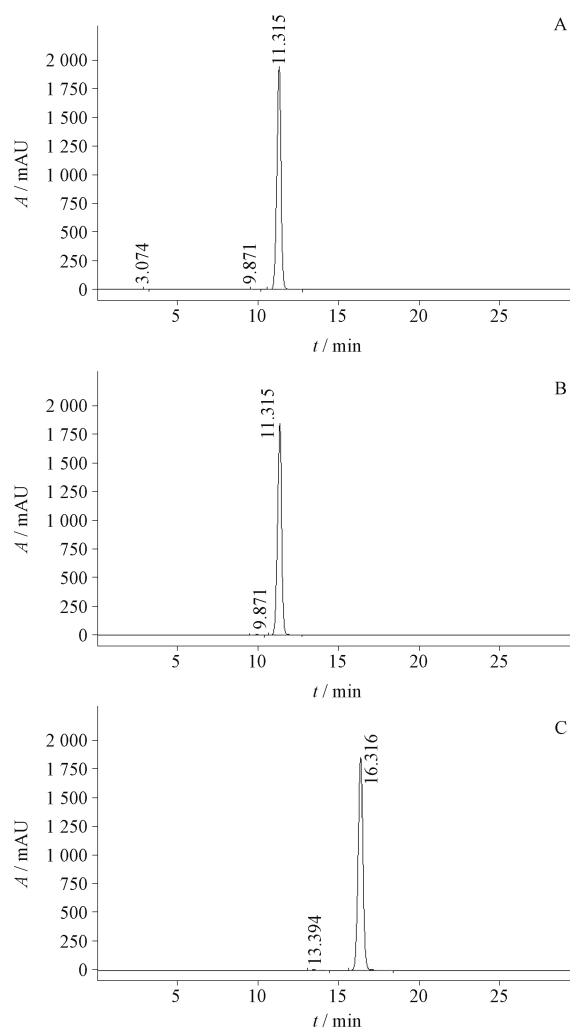


A. 石油醚-丙酮-冰醋酸 (petroleum ether-acetone-acetic acid)
 B. 石油醚-乙酸乙酯-冰醋酸 (petroleum ether-ethyl acetate-acetic acid)
 C. 环己烷-乙酸乙酯-冰醋酸 (cyclohexane-ethyl acetate-acetic acid)

图2 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮纯度检查薄层色谱图
 Fig. 2 The TLC purity examinations of 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone

2.3.2 高效液相色谱检查 取3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品适量,精密称量,加甲醇溶解,配制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液, $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜,滤过,取续滤液。使用 Agilent1260 高效液相色谱仪, Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 进样量为 20 μL , 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 分别在3个不同系统测试条件下测定。系统测试条件一:流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液 (80:20), 检测波长 266 nm; 系统测试条件二:流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液 (80:20), 检测波长 350 nm; 系统测试条件三:流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液 (60:40), 检测波长 350 nm。3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品在3个色谱条件下的液相色谱图 (见图3) 均为单一峰, 色谱峰纯度较好, 峰面积归一化法计算其相对百分含量为 98% 以上。

2.3.3 色谱峰纯度检查 取供试品溶液, 按“2.3.2”项系统测试条件二, 注入高相液相色谱仪进行检测。峰纯度检查液相色谱图见图4, 三维图谱见图5, 紫外吸收光谱及5点紫外光谱重合图见图6。由图4~6可知, 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品液相色谱图为单一峰, 最大吸收波长为 350 nm, 色谱峰上选择的5个点紫外光谱完全重合, 表明为单一物质峰。



A. 系统测试条件一 (1st system test condition) B. 系统测试条件二 (2nd system test condition) C. 系统测试条件三 (3rd system test condition)

图3 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮液相色谱图
 Fig. 3 HPLC chromatograms of 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone in three mobile conditions

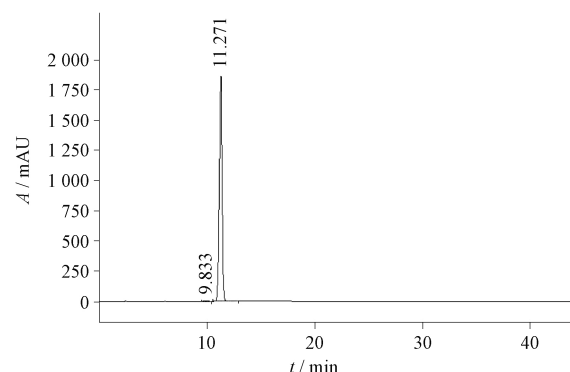


图4 DAD峰纯度检查HPLC色谱图
 Fig. 4 The DAD peak purity test in HPLC chromatogram

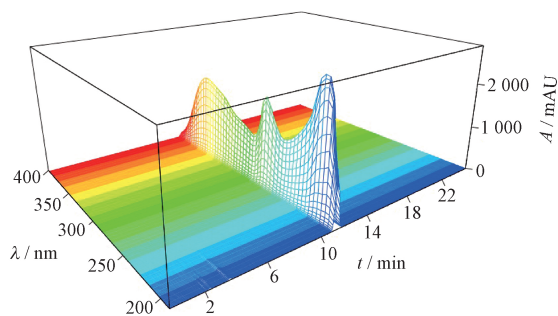


图5 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮三维图

Fig. 5 Three-dimensional diagram of HPLC chromatogram of 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone

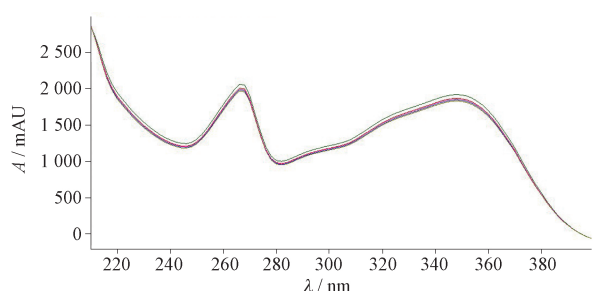


图6 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的紫外吸收光谱及纯度检查5点重叠光谱图

Fig. 6 The ultraviolet absorption spectrum and purity check of 5-point overlapping spectrogram of 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone

2.3.4 面积归一化纯度检查 在测定条件下,吸取供试品溶液 20 μL ,注入液相色谱仪,采用系统测试条件二和三分别记录色谱图至主成分的出峰保留时间的 2.5 倍以上,用面积归一化法计算含量,结果系统测定对照品含量均在 98% 以上,除溶剂峰外,杂质峰面积总和结果均 < 2.0%。结果见表 1、图 7。

2.4 HPLC 色谱分析方法学考察

2.4.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (75:25),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 350 nm,进样量 20 μL 。

2.4.2 线性关系的考察 取 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品适量,精密称量,加甲醇制成 50.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。分别精密吸取对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得系列浓度的对照品溶液。分别精密吸取系列浓度的对照品溶液 20 μL ,按“2.4.1”项下的色谱条件,每个浓度进样 2 次,测定峰面积值。以进样量 (μg) 为横坐标,峰面积积分为纵坐标,求得线性回归方程:

表1 HPLC 归一化法定量分析结果表

Tab. 1 Quantitative analysis results by HPLC normalization method

系统测试条件 (system test condition)	色谱峰 (peak)	保留时间 (retention time)/min	峰面积 (peak area)	相对百分含量 (relative percentage content)/%	分离度 (resolution)	理论板数 (theoretical of plate number)
二(2nd)	杂质 (impurity)	9.871	49.0	0.149	-	8 298
	3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮(3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone)	11.315	33 156.6	99.851	3.01	9 456
三(3rd)	杂质 (impurity)	13.433	44.9	0.138	-	13 707
	3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮(3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone)	16.359	32 443.4	99.862	5.94	15 528

$$Y = 0.0152X - 0.0217 \quad r = 0.9997$$

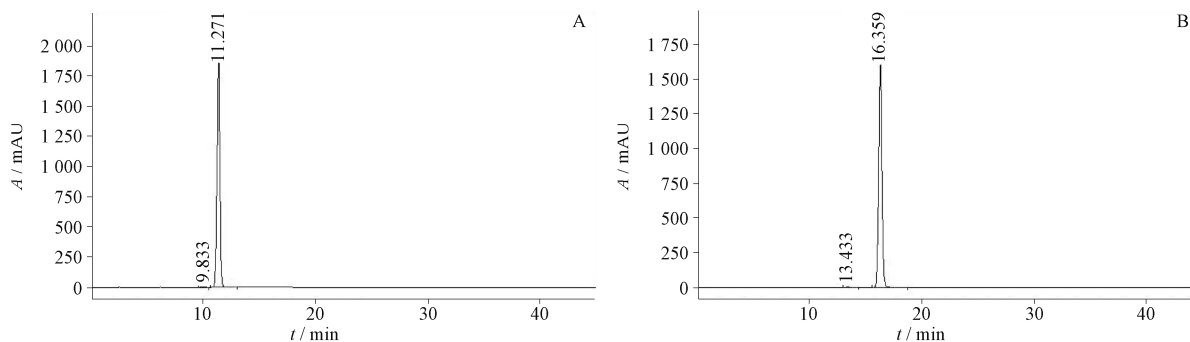
结果表明:3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮对照品质量浓度在 5.05 ~ 30.3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 呈现良好的线性关系。

2.4.3 精密度、重现性与稳定性考察 精密度:取同一供试品溶液,依法连续进样 6 次,按“2.4.1”项下的色谱条件进行测定,记录 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮色谱图及峰面积积分值,计算含

量。RSD 为 0.071%,表明仪器的精密度良好。

重现性:称取 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮 6 份,精密称量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.1”项下的色谱条件进行测定,记录 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的色谱图和峰面积积分值,计算含量。RSD 为 0.093%,说明方法重现性良好。

稳定性:取同一供试品溶液,在室温下放置 1、2、



A. 系统测试条件二(2nd system test condition) B. 系统测试条件三(3rd system test condition)

图7 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品峰纯度检查 HPLC 色谱图

Fig. 7 Peak purity of 3,5-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone tested by HPLC

3、6、8、24 h。依次进样测定,记录3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的色谱图和峰面积积分值,计算含量。结果RSD为0.12%,表明该供试品溶液在24 h内稳定。

2.4.4 方法学耐用性考察 采用3种不同厂家、不同品牌的色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Waters XBridge RP-C₁₈ (250 mm ×

4.6 mm, 5 μm)、ThermoFisher Hypersil GOLD (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),按“2.4.1”项下的条件,分别对保留时间、理论板数、分离度和杂质分离效果进行测定。3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮峰与其他杂质峰达到基线分离,分离度>1.5,按3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮峰计算理论板数≥4 000时,可满足测定要求,见表2。

表2 保留时间、理论塔板数及分离度

Tab. 2 Retention time, number of theoretical plates and degree of separation

色谱柱 (column)	保留时间 (retention time)/min	理论塔板数 (theoretical plates)	分离度 (resolution)
安捷伦 ZORBAX C ₁₈ (Agilent ZORBAX C ₁₈)	11.271	9.217	8.993
沃特世 XBridge RP-C ₁₈ (Waters XBridge RP-C ₁₈)	9.499	8.890	10.174
赛默飞 ThermoFisher Hypersil GOLD (ThermoFisher Hypersil GOLD)	3.22	-	1.51

2.5 质量平衡法测定含量

2.5.1 色谱纯度测定 2个条件的流动相系统(甲醇-0.1%磷酸水溶液和乙腈-0.1%磷酸水溶液)检出的3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮,采用峰面积归一化法计算峰纯度分别为99.85%、99.86%,杂质峰面积总和结果均<2.0%(见“2.3.4”)。采用0.1%自身对照法^[18]测得3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品色谱纯度为99.85%(n=2),杂质总含量均<2.0%。

2.5.2 炽灼残渣 参照2020年版《中华人民共和国药典》(四部通则0841)炽灼残渣检查法,测得3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品炽灼残渣为0.02%。

2.5.3 引湿性试验 参照2020年版《中华人民共和国药典》(四部通则9103)引湿性试验方法,测得3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品增重百分率为1.5%,略有引湿性。计算公式:增重百分率=(m₃-m₁)/(m₂-m₁)×100%,其中,m₁为恒温干燥后具塞玻璃称量瓶的质量,m₂为供试品加具塞玻璃称量瓶的质量,m₃为恒温恒湿条件下24 h供试品加具塞玻璃称量瓶的质量。

2.5.4 纯度定值 采用质量平衡法^[19]计算3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品纯度为99.83%。计算公式:候选化学对照品含量=色谱峰纯度×(100%-炽灼残渣%)。

3 结论

本研究分离纯化的3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品,经过3个展开剂溶剂系

统和 5 个不同浓度的梯度点样, TLC 检测为单一斑点, 未见有其他的杂质斑点; 在 2 个色谱系统 2 个波长检测 HPLC 液相色谱图均为单一峰, 且纯度均达到 98.0% 以上, 杂质总量 < 2.0%; 采用高效液相色谱法建立的 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮候选化学对照品含量测定方法, 经方法学考察具有专属性强、精密度良好、准确可靠的特点, 符合国家药品标准工作手册关于化学对照品的要求^[20]。研究结果可为 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮化学对照品的质量标准提出与制定提供基础资料, 为研制新药和开发新药标准提供技术支持, 还可为拟草果及其他含 3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮的药材与制剂的质量控制提供依据。

参考文献

- [1] 刘布鸣, 邱宏聪. 中药化学对照品研究与开发[J]. 广西科学, 2019, 26(5): 461
LIU BM, QIU HC. Research and development of traditional chinese medicine chemical reference substance[J]. Guangxi Sci, 2019, 26(5): 461
- [2] BIAN QY, WANG SY, XU LJ, et al. Two new antioxidant diarylheptanoids from the fruits of *Alpinia oxyphylla*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2013, 15(10): 1094
- [3] CHAREONKLA A, POHMAKOTR M, REUTRAKUL V, et al. A new diarylheptanoid from the rhizomes of *Zingiber mekongense*[J]. Fitoterapia, 2011, 82(4): 534
- [4] JASRII, MOOI LY, LAJIS NH, et al. Antioxidant and antitumor promoting activities of the flavonoids from *Hedychium thyriforme*[J]. Pharm Biol, 2003, 41(7): 506
- [5] SUDSAI T, PRABPAI S, KONGSAEREE P, et al. Anti-inflammatory activity of compounds from *Boesenbergia longiflora* rhizomes[J]. J Ethnopharm, 2014, 154(2): 453
- [6] SUDSAI T, WATTANAPIROMSAKUL C, TEWTRAKUL S. Wound healing property of isolated compounds from *Boesenbergia kingii* rhizomes[J]. J Ethnopharm, 2016, 184: 42
- [7] SUN J, ZHOU W, WEI CX, et al. A new benzofuran from *Artemisia halodendron* Turcz. ex Bess[J]. Nat Prod Res, 2019, 33(2): 226
- [8] 张丽坤, 罗都强, 冯玉龙, 等. 入侵植物飞机草的化学成分及其抗肿瘤活性[J]. 中成药, 2013, 35(3): 545
ZHANG LK, LUO DQ, FENG YL, et al. Chemical constituents of *Chromolaena odorata* and their anticancer activities[J]. Chin Tradit Pat Med, 2013, 35(3): 545
- [9] RAHMAN MM, GIBBONS S. Antibacterial constituents of *Neohyptis paniculata*[J]. Fitoterapia, 2015, 105: 269
- [10] VEDERNIKOV DN, ROSHCHIN VI. Extractive compounds of betulaceae family birch buds (*Betula pendula* Roth.): IV. Composition of sesquiterpene diols, triols, and flavonoids[J]. Russ J Bioorg Chem, 2012, 38(7): 753
- [11] WOLLENWEBER E, DÖRR M. Flavonoid aglycones from the lipophilic exudates of some species of Rosaceae[J]. Biochem Syst Ecol, 2008, 36(5-6): 481
- [12] ZHOU X, ZHANG Z, XU Y, et al. Flavone and isoflavone derivatives of terrestrial plants as larval settlement inhibitors of the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Biofouling, 2009, 25(1): 69
- [13] CABANILLAS BJ, LE LAMER AC, OLAGNIER D, et al. Leishmanicidal compounds and potent PPAR gamma activators from *Reinealmia thyrsoidea* (Ruiz & Pav.) Poepp. & Endl[J]. J Ethnopharm, 2014, 157: 149
- [14] BENMERACHE A, BENTELEDJOUNE M, ALABDUL MAGID A, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of *Tamarix balansae* J. Gay aerial parts[J]. Nat Prod Res, 2017, 31(24): 2828
- [15] 柴玲, 陈明生, 袁健童, 等. 拟草果总黄酮制备纯化及抗炎活性研究[J]. 广西植物, 2020, 40(12): 1706
CHAI L, CHEN MS, YUAN JT, et al. Purification and anti-inflammatory activity of total flavonoids from *Amomum psratasoko*[J]. Guihaia, 2020, 40(12): 1706
- [16] 柴玲, 林霄, 梁柏照, 等. 拟草果化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 49(14): 3217
CHAI L, LIN X, LIANG BZ, et al. Chemical constituents from fruits of *Amomum psratasoko*[J]. Chin Tradit Herb Drug, 2018, 49(14): 3217
- [17] 冯军, 柴玲, 陈明生, 等. 指纹图谱结合一测多评法评价拟草果质量的研究[J]. 中草药, 2021, 52(3): 852
FENG J, CHAI L, CHEN MS, et al. Application of fingerprint combined with QAMS in quality evaluation of *Amomum paratsaoko*[J]. Chin Tradit Herb Drug, 2021, 52(3): 852
- [18] 张轶华, 田晓彤, 王柳, 等. 主成分自身对照法测定注射用奥美拉唑钠中的 7 个已知杂质[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(7): 1201
ZHANG YH, TIAN XT, WANG L, et al. Determination of seven impurities in omeprazole sodium for injection by main component self-compare method[J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(7): 1201
- [19] 袁健童, 柴玲, 陈明生, 等. 棒柄花叶中胡椒酚-β-D-吡喃葡萄糖苷候选对照品的制备研究[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(5): 889
YUAN JT, CHAI L, CHEN MS, et al. Preparation of candidate reference substance of chavicol-β-D-glucopyranoside from leaves of *Cleidion brevipedunculatum*[J]. Chin J Pharm Anal, 2023, 43(5): 889
- [20] 国家药典委员会. 国家药品标准工作手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 449
Chinese Pharmacopoeia Commission. National Drug Standard Working Manual[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 449

(本文于 2023 年 11 月 14 日修改后)