

## HPLC 法测定侧金盏花中铃兰毒苷

刘娟, 崔向微

(佳木斯大学化学与药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

侧金盏花 *Adonis amurensis* Regel et Radde 为毛茛科侧金盏花属植物, 干燥全草入药, 具有强心、利尿、镇静作用。其主要有效成分为强心苷, 强心苷中单体成分铃兰毒苷又是研究较多、疗效较好的一类成分。在我国侧金盏花主要分布于东北三省, 为早春特有植物。据文献报道花期中所含的强心苷量最高, 各地由于气候、土壤等条件影响, 侧金盏花中所含的强心苷量是否存在差异尚未见报道, 因此在花期采集了东北不同产地的侧金盏花进行铃兰毒苷的测定, 通过所得数据, 可为其质量控制和评价提供基础性资料。

## 1 材料、仪器与试剂

1.1 材料: 侧金盏花于 2005 年 4 月中旬分别采自辽宁省千山地区、吉林省长白山地区、黑龙江省伊春地区。经本校生药学教研室刘娟教授鉴定。

1.2 仪器与试剂: Agilent 1100 高效液相色谱仪, G1314A 紫外检测器, BP211D Sartorius 电子天平, 德国。铃兰毒苷对照品购自 Sigma 公司, 甲醇为色

谱纯, 乙醇、氯仿、磷酸为分析纯, 水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱:  $C_{18}$  柱; 流动相: 甲醇-水-磷酸 (650 : 350 : 3); 体积流量: 0.4 mL/min; 柱温: 30 °C; 检测波长: 218 nm; 进样量: 2  $\mu$ L; 在此条件下铃兰毒苷的保留时间为 5.0 min, 铃兰毒苷能与其他成分很好地分开。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取铃兰毒苷对照品 1 mg, 加甲醇溶解并定容至 10 mL, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取药材干燥粉末 5 g, 放入 95% 乙醇 25 mL 浸泡 24 h, 反复共 4 次, 抽滤, 合并滤液, 减压浓缩至 5 mL, 加入 5 mL 蒸馏水, 放入冰箱中冷冻 24 h 去胶, 滤过。滤液用氯仿 10 mL 及氯仿-乙醇 (1 : 1) 10 mL 反复交替萃取, 直至水层对 3,5-二硝基苯甲酸试液显阴性为止。合并萃取液, 减压蒸馏除去溶剂, 加入甲醇 5 mL, 溶解, 作为供试品溶液。

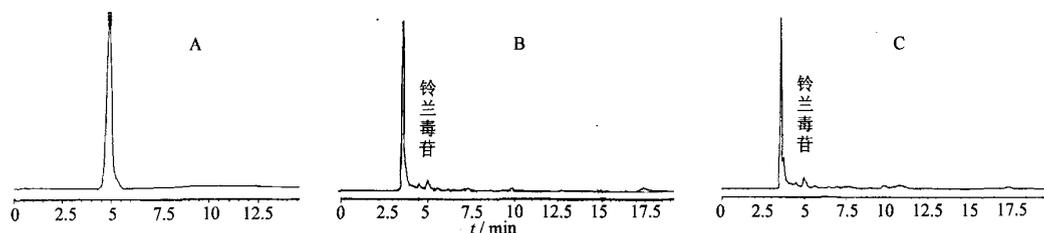


图 1 铃兰毒苷 (A)、侧金盏花地下部分 (B) 和地上部分 (C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of convallatoxin (A), under ground part (B) and aerial part (C) of *A. amurensis*

2.4 标准曲线的绘制: 分别精密吸取铃兰毒苷对照品溶液 1、2、3、4、5  $\mu$ L 进样测定, 以峰面积 (A) 为纵坐标 (Y), 进样量 ( $\mu$ g) 为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得回归方程为  $Y = 278.35 X - 1.43$ ,  $r = 0.9999$ 。对照品在 0.1~0.5  $\mu$ g 与峰面积呈线性关系。

2.5 精密度试验: 取同一对照品溶液连续进样 5 次, 测其峰面积, 计算 RSD 为 0.8% ( $n=5$ ), 表明仪器精密度很好。

2.6 重现性试验: 取同一浓度样品溶液重复提取 5

次进样, 测其峰面积。计算其 RSD 为 1.54% ( $n=5$ )。表明仪器重现性良好。

2.7 稳定性试验: 取同一质量浓度样品溶液在 4、8、12、24、48 h 进样测定, 计算其 RSD 为 1.12% ( $n=5$ )。表明样品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验: 精密称取 6 份已测铃兰毒苷量的样品, 分别精确加入铃兰毒苷对照品, 按样品测定项下方法操作。计算铃兰毒苷的平均回收率为 98.8%, RSD=1.1% ( $n=6$ )。

2.9 样品测定: 取 3 个不同产地的侧金盏花样品地

上、地下部分粉末分别制备供试品溶液,取 2  $\mu$ L 进样作 HPLC 分析,其测定结果见表 1。

表 1 不同产地侧金盏花样品中铃兰毒苷 ( $n=5$ )

Table 1 Determination of convallatoxin of *A. amurensis* from various habitats

产地	部位	铃兰毒苷/%
辽宁	地上	0.002 2
	地下	0.140 0
吉林	地上	0.001 9
	地下	0.130 0
黑龙江	地上	0.001 4
	地下	0.079 0

### 3 讨论

侧金盏花中强心苷量最高的时期为花期,因而选取花期为特征性指标对不同地区的侧金盏花进行测定。测定结果表明辽宁省千山地区侧金盏花中铃兰毒苷的量略高于吉林省长白山地区,高于黑龙江省伊春地区。由此可推断各地由于气候、土壤等地理条件的不同,其有效成分的量也有较大差异。因此在人工栽培时应考虑这些必要的因素,选择合适的栽培地点,为高量药材的栽培提供有利的条件。同时本实验也为选取道地药材、主产区等提供了科学依据。

## 中国东南部 4 种绞股蓝中黄酮成分的分析

王临润,黄明珠

(浙江大学医学院附属第一医院,浙江 杭州 310003)

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 系葫芦科绞股蓝属草质藤本植物,产于亚洲热带和东亚,我国主要分布于秦岭及长江以南 15 个省,野生资源极为丰富。药理学研究证明,绞股蓝具有明显的强壮作用和抗疲劳作用,延长细胞寿命,调节血脂、降低血糖水平,增强肌体免疫等功能。1976 年,日本植物化学家竹本常松从甘茶蔓(甜味绞股蓝 *G. pentaphyllum* Sweet) 中分析得到人参含有的 5 种皂苷以来,在中国各地(主要在长江以南各省)掀起了研究绞股蓝的热潮,研究工作做得尤其多的是绞股蓝中皂苷和总苷的量。然而,对其中的另一类活性成分黄酮却极少有人研究。在中国东南部江苏、浙江、安徽、江西和福建等 5 个省,据研究调查存在 5 种绞股蓝:绞股蓝 *G. pentaphyllum*、小果绞股蓝 *G. zhejiangense* X. J. Xue, sp. nov.<sup>[1]</sup>、白脉绞股蓝 *G. pallidinerve* Z. Zhang, sp. nov.<sup>[2]</sup>、喙果绞股蓝 *G. yixingense* (Z. P. Wang, et Q. Z. Xie) C. Y. Wu et S. K. Chen 和疏花绞股蓝 *G. laxiflorum* C. Y. Wu et S. K. Chen。其中分布在安徽的疏花绞股蓝现已无法找到。笔者对其他 4 种绞股蓝的黄酮成分进行了检测,分析其差异。

### 1 仪器与试样

日本岛津 UV-3000 紫外分光光度计。对照品:芦丁(由中国药品生物制品检定所提供)。药材

来源:绞股蓝,采自浙江杭州龙井;小果绞股蓝,采自浙江杭州玉皇山;白脉绞股蓝,采自浙江建德林科所;喙果绞股蓝,采自浙江杭州赤山埠。4 种绞股蓝的原植物均由浙江大学薛祥骥教授鉴定。氯仿、甲醇、丁酮试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:精密称取于 120  $^{\circ}$ C 干燥至恒重的芦丁对照品 6 mg,置于 100 mL 量瓶中,加乙醇溶解、稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 0.06 mg/mL 的芦丁对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备:称取 4 种样品粗粉各约 5 g,准确称定,分别置于索氏提取器中,用 60% 乙醇加热回流提取 3 次(1.5、1、1 h),合并提取液,滤过并回收乙醇至干,用少量热水溶解后,滤过并用乙醚脱脂至醚层近无色,分取水层,蒸干水液,残渣用 95% 乙醇溶解,滤过,于 50 mL 量瓶中定容,摇匀,即分别得绞股蓝、小果绞股蓝、白脉绞股蓝和喙果绞股蓝供试品溶液。

2.3 标准曲线绘制:精密吸取“2.1”项下对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,分别置于干燥试管中,各加乙醇稀释至 5.0 mL(另取 5.0 mL 乙醇液为空白对照),精密加入 0.1 mol/L  $AlCl_3$  乙醇液 3.0 mL 及 1 mol/L KAc 乙醇液 5.0 mL,摇匀,放置 40 min,滤过,滤液在 420 nm 波长处测定吸光度

收稿日期:2006-07-10

作者简介:王临润(1963—),男,浙江义乌市人,副主任药师,学士,从事医院药学、药物分析等科研工作。

Tel: (0571) 87236531 E-mail: linrunw@yahoo.com.cn