

通过表1可以看出,灰毡毛忍冬不同个体间叶中绿原酸量大致在0.15%~3.67%,而木犀草苷的量大致在0.056%~0.386%,经过方差分析,结果表明,50株灰毡毛忍冬不同个体间绿原酸和木犀草苷的量差异显著($P < 0.05$)。

通过表2可以看出,灰毡毛忍冬不同个体间枝中绿原酸的量大致在0.09%~1.57%,而木犀草苷的量大致在0.003%~0.051%,经过方差分析,结果表明,50株灰毡毛忍冬不同个体间绿原酸和木犀草苷的量差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

研究过程中发现,灰毡毛忍冬不同部位的叶中绿原酸量差别较大,同时,新长出的嫩叶和老叶绿原酸和木犀草苷的量差别也较大,为了进一步研究它们的差异性,特将整株叶均分为3部分,分别为上部、中部和下部,并根据叶的生长过程将叶分为嫩叶和老叶。

绿原酸和木犀草苷是植物次生代谢产物,其量

受到自身遗传因素和生理、生化等因素的影响,也受到植物生长发育进程及其所处的生境条件的控制。在植物的生长过程中,其细胞内不断发生次生代谢产物的合成、转化或降解,各部分所处的环境不同,其量也会显著不同^[4]。本研究表明,灰毡毛忍冬叶的绿原酸和木犀草苷量普遍比枝中要高,同时上部叶的绿原酸量一般都高于中部和下部叶,嫩叶的绿原酸和木犀草苷量明显高于老叶,这对生产实践具有很大的指导意义。

统计分析表明,灰毡毛忍冬不同个体间叶和枝中绿原酸和木犀草苷量差异显著,这对后续的品种选育具有指导作用。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 梁生旺,崔永霞,王淑美,等.金银花的HPLC药效指纹图谱研究[J].中草药,2006,37(10):1489-1493.
- [3] 张会敏,石俊英.近五年金银花研究进展[J].食品与药品,2006,8(12A):11-13.
- [4] 张康健,董娟娥.药用植物次生代谢[M].西安:西北大学出版社,2001.

HPLC测定不同产地茯苓中猪苓酸C和去氢土莫酸

金晓勇^{1,2,3},贾晓斌^{1,2,3*},陈彦^{1,2},王静静^{1,2},兰雪莲^{1,2}

(1. 江苏省中医药研究院 中药新型给药系统重点实验室,江苏 南京 210028; 2. 国家中医药管理局名方适宜型重点研究室,江苏 南京 210028; 3. 江苏大学药学院,江苏 镇江 212013)

摘要:目的 建立一种测定茯苓中猪苓酸C和去氢土莫酸的方法,并比较不同产地茯苓中猪苓酸C和去氢土莫酸量的差异。方法 应用HPLC法测定猪苓酸C、去氢土莫酸的量,色谱柱为Alltima-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为乙腈-水-磷酸(70:29.85:0.15);体积流量为1 mL/min;检测波长为244 nm;进样量为20 μL;柱温为30℃。结果 测得8个产地茯苓中猪苓酸C、去氢土莫酸的量分别为0.188 6~0.575 6、0.113 7~0.216 7 mg/g,其中以浙江产茯苓药材中猪苓酸C、去氢土莫酸量最高,四川次之,其他几个产地的量相对较低;猪苓酸C定量测定的线性范围为0.179 2~2.240 0 μg($r^2 = 0.999 9$),平均加样回收率为98.88%,RSD为1.77%;去氢土莫酸测定的线性范围为0.137 2~1.715 0($r^2 = 1$),平均加样回收率为97.76%,RSD为0.62%。结论 所建立的色谱方法可以简便、准确测定茯苓中猪苓酸C、去氢土莫酸的量,重现性好;各产地茯苓中的猪苓酸C、去氢土莫酸的量差别较大,有必要建立猪苓酸C、去氢土莫酸的定量控制方法。

关键词:高效液相色谱法;茯苓;猪苓酸C;去氢土莫酸

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)07-1150-03

茯苓是中国传统中药,历代本草均有记载,始载于《神农本草经》,被列为上品,为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,性平,味甘、淡,归心、肺、脾、肾经,功能利水渗湿、健脾和胃、

宁心安神;主要含有三萜酸类如茯苓酸和多糖等有效成分^[1]。猪苓酸C、去氢土莫酸等茯苓素具有抗肿瘤以及增强免疫功能的作用^[2,3]。《中国药典》2005年版测定项尚无其化学成分定量测定^[4]。本

* 收稿日期:2008-10-26

基金项目:江苏省中医药领军人才项目(2006)

作者简介:金晓勇(1982—),男,江苏连云港人,江苏大学2006级硕士研究生,研究方向为中药物质基础与质量评价。

Tel:13814038712 E-mail:jinzhuang@163.com

* 通讯作者 贾晓斌 Tel/Fax:(025)85637809 E-mail:jiaxiaobin2005@hotmail.com

研究采用 HPLC 法测定 8 种不同产地茯苓中猪苓酸 C、去氢土莫酸的量,为评价茯苓药材质量提供一种准确可靠的分析方法。

1 仪器与试药

美国 Waters 公司高效液相色谱仪(Waters 600 型泵,Waters 2996 紫外检测器),Empower 数据处理系统;KQ5200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);METTLER TOLEDO 分析电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司,十万分之一)。乙腈、磷酸(TEDIA 公司,色谱纯),甲醇、乙醇(南京化学试剂有限公司,分析纯),水为超纯水;猪苓酸 C、去氢土莫酸对照品为实验室自制(质量分数均高于 98%);云南、安徽、浙江、湖南、湖北、河南、河北、四川产茯苓药材均购于安徽亳州华申药业有限公司(产品批号:080325、080406、080327、080401、080425、080419、080412、080420),药材经南京中医药大学吴德康教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Alltima-C₁₈ 色谱柱((250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水-磷酸(70 : 29.65 : 0.35);体积流量为 1.0 mL/min,检测波长为 244 nm,柱温为 30 °C,进样量为 20 μL。高效液相色谱图见图 1。

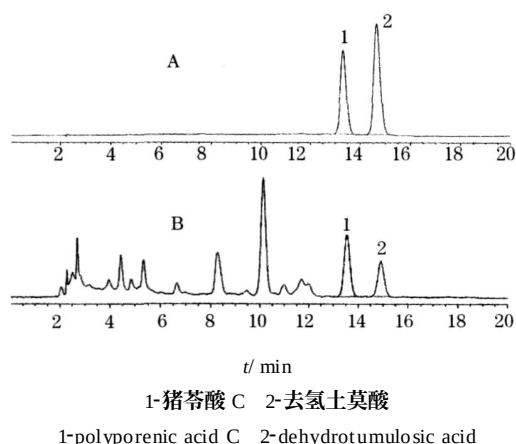


图 1 混合对照品(A)及茯苓药材(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substance (A) and *P. cocos* (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称定猪苓酸 C 4.48 mg,去氢土莫酸 3.43 mg 对照品置于不同的 10 mL 量瓶中,加乙腈定容至刻度,得 0.448 mg/mL 猪苓酸 C,0.343 mg/mL 去氢土莫酸储备液。精密移取猪苓酸 C、去氢土莫酸储备液各 1 mL 至同一 10 mL 量瓶中摇匀,加乙腈定容至刻度,摇匀,即得 44.8、34.3 μg/mL 的混合对照溶液。

2.3 供试品溶液的制备:称取样品(过 60 目筛)0.4 g,精密称定,加入甲醇-5%乙酸溶液 20 mL,精密称定,超声提取 30 min,称质量后用提取液补足所失质量,滤过,减压蒸干,残渣用乙腈溶解,定容于 5 mL 量瓶中,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察:精密吸取混合对照品溶液 4、5、10、20、30、40、50 μL 依次进样,按 2.1 项下色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,对照品进样量为横坐标,绘制回归曲线。猪苓酸 C: $Y = 764\,583\,X + 6\,330$, $r^2 = 0.999\,9$,线性范围 0.179 2~2.240 0 μg;去氢土莫酸: $Y = 1\,E + 06\,X + 1\,806.3$, $r^2 = 1$,线性范围 0.137 2~1.715 0 μg。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品 20 μL,连续进样 5 次,按 2.1 项下色谱条件测定,各对照品峰面积 5 次积分值的 RSD 分别为猪苓酸 C 0.47%,去氢土莫酸 0.55%。

2.6 重现性试验:取同一茯苓药材粉末(过 60 目筛),按 2.3 项下操作制备供试品溶液 6 份,按 2.1 项下色谱条件测定,计算猪苓酸 C 质量分数的 RSD 为 2.3%,去氢土莫酸质量分数的 RSD 为 2.4%。

2.7 稳定性试验:取同一份供试品溶液,室温放置,分别在 0、1、2、4、8、12、24 h 进样,按 2.1 项下色谱条件测定,以峰面积计算,猪苓酸 C RSD 为 2.5%,去氢土莫酸 RSD 为 2.8%,表明供试品在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验:称取同一测定的样品 9 份,每份约 0.2 g,精密称定后,依次加入低、中、高 3 种质量浓度猪苓酸 C 储备液和去氢土莫酸储备液,按 2.3 项下操作制备供试品溶液,准确吸取供试品 20 μL,进样,按 2.1 项下色谱条件测定,计算得猪苓酸 C、去氢土莫酸平均回收率分别为 98.88%、97.76%,RSD 分别为 1.77%、0.62%。

2.9 样品测定:称取不同产地的茯苓药材约 0.4 g,精密称定按 2.3 项下操作制备供试品溶液,准确吸取 20 μL,进样,按 2.1 项下测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 本实验建立了茯苓中抗肿瘤及增强免疫功能有效成分猪苓酸 C、去氢土莫酸的高效液相色谱测定方法,可使其获得很好的分离,且具准确、重现性好等特点。茯苓的产地比较广,文献记载主要分布于云南、安徽、浙江、湖南、湖北、河南、河北、四川等地,其他各省也有少量分布。本实验结果表明,几大主要产地的茯苓药材中猪苓酸 C、去氢土莫酸定量差异较大,其中以浙江产的茯苓的量最高,四川的次

表1 不同产地药材中的猪苓酸 C、去氢土莫酸($n=3$)Table 1 Polyporenic acid C and dehydrotumulosic acid in *P. cocos* from different habitats ($n=3$)

产地	猪苓酸 C ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD / %	去氢土莫酸 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD / %
云南	0.191 3 $\pm$ 0.001 5	0.81	0.096 5 $\pm$ 0.000 7	0.73
安徽	0.225 8 $\pm$ 0.001 2	0.55	0.114 0 $\pm$ 0.000 8	0.76
四川	0.319 8 $\pm$ 0.003 5	1.09	0.163 2 $\pm$ 0.001 3	0.77
浙江	0.575 6 $\pm$ 0.003 4	0.60	0.216 7 $\pm$ 0.001 7	0.77
河南	0.200 3 $\pm$ 0.005 6	2.84	0.114 5 $\pm$ 0.000 9	0.85
河北	0.188 6 $\pm$ 0.004 5	2.36	0.113 7 $\pm$ 0.001 7	1.50
湖南	0.283 3 $\pm$ 0.003 8	1.35	0.177 7 $\pm$ 0.001 8	1.02
湖北	0.263 7 $\pm$ 0.002 1	0.78	0.145 8 $\pm$ 0.001 0	0.65

之,其他几个产地的量相对较低。

3.2 本实验比较了甲醇-含酸水、乙腈-含酸水流动相系统的洗脱情况,结果表明乙腈-含酸水流动相系统明显优于甲醇-含酸水系统,因甲醇-含酸水系统不能实现较好的分离,故选择乙腈-含酸水流动相系统。以乙腈-含酸水为流动相系统,比较了流动相乙腈-0.5%磷酸水(70:30,75:25,80:20)及梯度洗脱的方法,结果表明流动相为70:30洗脱效果较好,故本实验流动相采取乙腈-0.5%磷酸水70:30。

3.3 在样品提取过程中,比较了5种不同提取溶媒

(甲醇、甲醇-5%乙酸、乙醇、乙醇-5%乙酸、5%乙酸水),结果表明甲醇-5%乙酸提取效率高于其他4种溶媒;以甲醇-5%乙酸为提取溶媒,比较了两种不同的提取方法,热回流提取法、超声提取法,结果超声提取法提取率明显高于热回流提取方法;采用超声提取法,分别考察了加入10、20、30 mL 甲醇-5%乙酸的提取效率。结果表明20、30 mL 提取率无明显差异,故提取溶剂量选择20 mL;采用超声提取法,加入20 mL 甲醇-5%乙酸,又分别考察了提取20、30、40 min的提取效率,结果表明提取30、40 min提取率无明显差别,故提取时间选择30 min。

3.4 本实验测定了8省区主要产地的茯苓中猪苓酸 C 和去氢土莫酸的量,对进一步确定茯苓最佳产地,扩大药用资源具有一定的参考意义。

参考文献:

- [1] 《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998.
- [2] 金琦,曹静,王淑华. 大剂量茯苓的药理作用及临床应用概况[J]. 浙江中医杂志,2003,38(9):410-411.
- [3] 许津,吕丁,钟启平,等. 茯苓素对小鼠 L1210 细胞的抑制作用[J]. 中国医学科学院学报,1988,10(1):45-49.
- [4] 中国药典[S]. 一部. 2005

HPLC 法测定青天葵中鼠李柠檬素和鼠李秦素

周燕园,甄汉深,袁叶飞,钟振国,梁臣艳*

(广西中医学院,广西南宁 530001)

摘要:目的 建立青天葵中鼠李柠檬素与鼠李秦素的定量测定方法。方法 运用 HPLC 法测定,色谱柱为 Inertsil ODS-3 C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),流动相为甲醇-0.4%磷酸水溶液(63:37),体积流量:1.0 mL/min,检测波长:368 nm,柱温:40 $^{\circ}$ C。结果 鼠李柠檬素在 0.2~0.7 μ g 线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率为 100.04%,RSD 为 1.35%($n=6$)。鼠李秦素在 2.8~9.8 μ g 线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率为 100.26%,RSD 为 0.78%($n=6$)。结论 本方法简便、快速、准确,可作为青天葵药材的质量控制方法。

关键词:青天葵;鼠李柠檬素;鼠李秦素;定量测定;高效液相色谱法

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)07-1152-03

青天葵来源于兰科植物毛唇芋兰 *Nervilia foaidii* (Hance) Schltr.^[1],为广西特产药材,具有清肺止咳、健脾消积、镇痛止痛、散瘀消肿、清热解毒之功效,主治肺癆、咳嗽咳血、中毒、跌打损伤、小儿疳积、精神病、口腔炎、急性咽喉炎等症。近年来还

用含有青天葵复方制剂治疗鼻咽癌以缓解症状^[2],在目前对青天葵化学成分的研究中^[3~5],已分离鉴定出有三萜、氨基酸、甾体、黄酮类化学成分,并显示出有皂苷、有机酸类成分的反应。其中鼠李柠檬素与鼠李秦素是2种重要黄酮类成分,经本课题组

* 收稿日期:2008-10-20

基金项目:国家自然科学基金地区联合项目(30160095);国家人事部留学回国人员资助项目(人发[2002]99号);广西“新世纪十百千人才工程”资助项目(2001209);广西高校人才小高地建设创新团队资助计划

作者简介:周燕园(1978—),女(回族),湖南邵阳人,讲师,硕士,主要从事中药、药学方面的教学与科研工作,研究方向为天然药物、中药及民族药的质量与成分分析研究。Tel:13217811600 或(0771)2219867(办) E-mail:zhou_yanyuan@163.com