

不断得到结构类型新颖的有显著生物活性的高等真菌次生物质,同时结合高等真菌培养发酵液提供样品供药理研究,为人类合理利用真菌资源提供依据。我国高等真菌资源十分丰富,深入对其进行研究开发,无论从经济价值还是从药用价值方面都具有重大意义。

致谢:承蒙中国科学院昆明植物研究所植物化学开放实验室刘吉开教授审阅,并提出宝贵意见,在此深表谢意。

参考文献

1 袁明生,等编著. 四川真菌. 成都:四川科学技术出版社,1995;50
2 卯晓岚编著. 中国经济真菌. 北京:科学出版社,1998;IV
3 Ayer W A, *et al.* Tetrahedron, 1981, 37: 2199
4 Ayer W A, *et al.* Tetrahedron Lett, 1972, 13: 1917
5 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1973, 51: 3157
6 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1978, 56: 717

7 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1978, 56: 2113
8 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1979, 57: 3332
9 Shibata H, *et al.* Agric Biol Chem, 1989, 53(12): 3373
10 Ohta T, *et al.* Tetrahedron Lett, 1998, 39: 6229
11 Kita T, *et al.* Tetrahedron, 1998, 54: 11877
12 Kawagishi H, *et al.* Tetrahedron Lett, 1994, 35(10): 1569
13 Cassidy M P, *et al.* Aust J Chem., 1985, 38: 1187
14 Anke T, *et al.* J Antibiotics, 1977, 30: 221
15 Gamba A, *et al.* Tetrahedron Lett, 1995, 36(11): 1905
16 Benevelli F, *et al.* Tetrahedron Lett, 1995, 36(17): 3035
17 Knops L, *et al.* Liebigs Ann, 1995, 77
18 Mazur X, *et al.* Phytochemistry, 1996, 43(2): 405
19 Engler M, *et al.* Phytochemistry, 1998, 49(8): 2591
20 Toyota M, *et al.* Phytochemistry, 1990, 29(5): 1485
21 Kawagishi H, *et al.* USP, 5391544(1995)
22 Janimoto T, *et al.* J Antibiotics, 1996, 49(7): 617
23 Janimoto T, *et al.* J Antibiotics, 1996, 49(7): 624
24 Saito T, *et al.* J Antibiotics, 1998, 51(11): 983

(1999-03-26 收稿)

1999-06-13 修回)

贝母及其制剂内在质量评价研究进展

中国药科大学生药教研室(南京 210009) 李松林* 李 萍

摘要 评价贝母及其制剂内在质量的有重量法、酸碱滴定法、安培滴定法、两相滴定法、酸性染料比色法,薄层分离-紫外分光光度法、薄层扫描法和高效液相色谱法,其中酸性染料比色法测定总生物碱和薄层扫描法测定单体生物碱应用最多。评价内容涉及贝母药材、栽培品和组培物与野生品的比较、不同种间比较等。HPLC 法和 GC 法用于活性单体化合物的评价值得深入研究,贝母制剂质量评价和生物样品的测定有待加强。

关键词 贝母 质量评价 生物碱

贝母是常用止咳中药,来源于贝母属 *Fritillaria* L. 多种植物地下鳞茎。业已证明贝母的主要活性成分为贝母生物碱及其苷。另外贝母的皂苷、腺苷及脂肪酸也与贝母的祛痰、平喘和降压等作用有关。多年来在贝母的内在质量评价中主要将生物碱作为指标成分,皂苷和腺苷等也有所涉及,笔者拟对近年来的研究进展作一概述。

1 生物碱的评价

1.1 总生物碱:至今可用 4 种方法测定贝母

总生物碱。1)酸碱滴定法^[1]:以甲基红为指示剂,用硫酸标准液滴定。该法为传统的容量法,操作程序较繁。2)安培滴定法^[2]:以硅钨酸为试剂,以饱和甘汞电极为阳极,滴汞电极为阴极,测定贝母生物碱和硅钨酸在硫酸钾支持电解质中的极谱曲线。该法底液的 pH 值对测定结果影响很大。3)两相滴定法^[2]:根据酸性染料溴麝香草酚蓝在一定 pH 条件下与贝母生物碱生成离子对并定量被氯仿提取从而测定贝母总碱含量(水相出现黄色即为

* Address: Li Songlin, Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing
南京军区后勤部药检所工作,现为中国药科大学在职博士研究生。

终点)。该法水相的 pH 值对测定结果影响很大,且终点掌握较困难。4)酸性染料比色法^[3]:以酸性染料溴麝香草酚蓝或溴甲酚绿与贝母生物碱在一定 pH 条件下生成离子对,并定量地被氯仿或二氯甲烷提出,在碱化

或酸化后进行比色测定。该法与二相滴定法原理相同,溶液 pH 也是影响测定的主要因素,但比色法消除了滴定法终点观察困难带来的偶然误差。有关贝母总生物碱评价情况见表 1。

表 1 贝母总生物碱的评价

品 名	评价方法	评价内容及结果	参考文献
浙贝母 <i>E. thunbergii</i>	2	药材总碱 0.30%~0.63%	2
伊贝母 <i>F. pallidiflora</i>	2	药材总碱 0.12%~0.22%	2
浙贝母	3	花期生物碱含量最高;9 种浙贝商品总碱 0.12%~0.50%;生切脱水法总碱含量最高,传统加工法生物碱损失严重	9,4,23
湖北贝母 <i>F. hupehensis</i>	3	宜在芒种至小暑时节采收湖北贝母。总生物碱在 0.2981%~0.4614%	5
秦贝母 <i>F. cirrhosa</i> <i>f. glabra</i>	3	野生和家种秦贝母总碱无明显差异,为 0.13%~0.14%	6
伊贝母	3	生物碱含量在 1 d 内变化显著,最佳采收时间为中午,相对光强为 80%时,鲜茎中生物碱积累最高	7,20
康定贝母 <i>F. cirrhosa</i> <i>var. ecirrhosa</i>	3	以花期总碱最高,故 6~7 月为是最佳采收期	11
甘肃贝母 <i>F. przewalskii</i>	3	总碱量野生品略高于家种品	12
川贝母 <i>F. cirrhosa</i>	3	总碱含量花期与一片叶期无明显差异	22
川贝母	1	组培鳞茎总碱含量是原种的 2.6 倍	13
浙贝母	1	3 年生含量最高,达 0.5%,品种和地点间均有差异	17
浙贝母	4	新生浙贝母的总碱含量优于其种贝母,总碱 0.21%;0.25%	8,10,19
湖北贝母	4	生药中总碱 0.52%	10
鄂北贝母 <i>F. ebeiensis</i>	4	总碱 0.72%	10
利川贝母 <i>F. lichuanensis</i>	4	总碱 0.41%	10
蒲圻贝母 <i>F. puqiensis</i>	4	总碱 0.42%	10
安徽贝母 <i>F. anhuiensis</i>	4	总碱 0.46%~0.57%;0.43%	10,19
伊贝母	4	总碱 0.20%~0.27%	10
东贝母 <i>F. thunbergii</i> <i>var. chekiangensis</i>	4	总碱 0.56%	10
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	4	总碱 0.16%~0.20%	10
托里贝母 <i>F. tortifolia</i>	4	总碱 0.13%	10
小白花贝母 <i>F. albidiflora</i>	4	总碱 0.24%	10
裕民贝母 <i>F. yuminensis</i>	4	总碱 0.20%	10
砂贝母 <i>F. karelinii</i>	4	总碱 0.16%	10
暗紫贝母 <i>F. unibracteata</i>	4	总碱 0.21%;组培鳞茎总碱含量是原种的 1.2~1.5 倍	10,14
甘肃贝母	4	总碱 0.09%	10
梭砂贝母 <i>F. delavayi</i>	4	总碱 0.14%;0.092%	10,19
太白贝母 <i>F. taipaiensis</i>	4	总碱 0.12%	10
鄂北贝母	4	总碱果期较花期高,3 年生明显高于 2 年生,高山环境明显高于低矮环境,石灰制明显高于清水制,家种与野生区别不大	15
紫花鄂北贝母 <i>F. ebeiensis</i> <i>var. purpurea</i>	4	总碱果期较花期高,3 年生较 2 年生稍高,海拔高度无明显影响,野生与家种区别不明显,总碱 0.55%	15,10
平贝母 <i>F. ussuriensis</i>	4	总碱的含量 0.283%~0.351%;0.17%	18,10
蛇胆川贝液	4	以总碱为指标评价制剂质量,检测不同厂家蛇胆川贝液中总碱含量,结果差异较大	16,21

由表 1 可知,90 年代初建立了酸性染料比色法测定贝母总生物碱的含量,随着分光

光度计的不断普及,近年来该法越来越多地被用来评价贝母的内在质量。

1.2 单体生物碱:虽然已从贝母类药材中分离鉴定出 130 多种贝母单体生物碱,但由于大多数贝母生物碱无共轭双键,因此贝母单体生物碱的评价方法研究少见报道,至今可

见用于贝母单体生物碱评价的方法有两种,分述如下:

1.2.1 薄层扫描法:该法使用相对较多,有关情况见表 2。

表 2 单体生物碱的薄层扫描测定

品名	薄层板	展开剂	λ_S (nm)	λ_R (nm)	评价内容	文献
浙贝母	硅胶 G	乙醚-无水乙醇 (10:3)	540	650	比较了 5 种商品中浙贝甲素和浙贝乙素的含量,有较大差异	4,8
湖北贝母		苯-乙酸乙酯-二乙胺 (6:4:1)	540	650	芒种至小暑采集的样品湖北贝母最高	5
秦贝母	硅胶 G	乙酸乙酯-甲醇-氨水 (20:1:1)	505	600	野生与家种西贝素含量无明显差异,均在 0.040%	6
伊贝母	硅胶 G	乙酸乙酯-甲醇-氨水 (20:1:1)	505	600	西贝素与总碱含量在 1 d 内变化趋势一致	7
鄂北贝母 紫花鄂北贝母		环己烷-乙酸乙酯-二乙胺 (6:4:1)	495	600	不同的海拔高度、生长期、收获期、加工方法以及野生和家种品中鄂贝甲素、浙贝甲素和浙贝乙素的含量均有差异	24
安徽贝母等 3 种贝母	硅胶 G	环己烷-乙酸乙酯-二乙胺 (6:4:1); 环己烷-甲醇-氨水 (17:2:1) 无醚-无水乙醇 (100:3)	495	600	测定了 3 种贝母中的浙贝甲素、浙贝乙素、异浙贝甲素、皖贝甲素、贝母辛和川贝酮的含量	19
川贝母		环己烷-乙酸乙酯-二乙胺 (6:4:1)	510	600	一匹叶西贝素含量高于花期	22
浙贝母及制剂	高效薄层板	乙酸乙酯-甲醇-氨水 (17:2:1)	510	650	测定了药材及制剂中浙贝乙素的含量	26
暗紫贝母等 23 种 贝母属植物	高效硅胶 GF ₂₅₄	苯-氯仿-乙酸乙酯-甲醇-二乙胺 (12:1.5:0.2:1)	436		检测了浙贝甲素、浙贝乙素、西贝素、川贝酮和 delavine 5 种 5 α -cevenine 类异甾体生物碱的存在情况,探讨了其他分类学意义	27
暗紫贝母等 11 种 贝母属植物	硅胶 G	环己烷-乙酸乙酯-二乙胺 (6:4:1)	510	650	测定各种贝母中西贝素的含量	25

薄层扫描法测定贝母单体生物碱应用较为广泛,这是目前最为有效的方法。采用的薄层板均为硅胶 G 板,展开剂基本为 3 个系统,即乙酸乙酯-甲醇-氨水系统,苯(环己烷)-乙酸乙酯-二乙胺系统和乙醚-无水乙醇系统。薄层板均以改良碘化铋钾喷雾显色,测定波长 495~540 nm,参比波长 600~650 nm,用薄层扫描法定量的单体生物碱有浙贝甲素(ver-ticine)、浙贝乙素(verticinone)、异浙贝甲素(isoverticine)、西贝素(imperialine)、湖北贝母甲素(hupehenine)、皖贝甲素(wanpeinine)和川贝酮(chuanbeinone)。

1.2.2 高效液相色谱法:前已述及由于多数贝母生物碱无共轭双键,因此单体生物碱的直接 HPLC 分析研究较少,仅分析了贝母药

材中一个含羰基的化合物贝母辛(peimisine)^[28],且检测灵敏度较低。最近有人利用柱前衍生化 HPLC 法检测了药材中的西贝素^[29]。我们也曾应用此法同时检测浙贝甲素、异浙贝甲素、浙贝乙素、鄂贝啉和去氢鄂贝啉^[30],该法准确,检测灵敏度高,但样品预处理时间较长,衍生化试剂价格昂贵是该法的美中不足。

2 腺苷和胸苷的评价

腺苷(adenosine)作为一种天然成分,已知具有抗凝血、扩张冠状动脉、松弛支气管平滑肌、镇静中枢神经、抗心率不齐和消炎等作用,近年来倍受人们的关注。

最近有人以血小板活化因子(PAF)为诱导剂,对平贝母进行抑制血小板聚集成分研

究时,发现其活性成分为2个水溶性核苷类化合物即胸苷(thymidine)和腺苷^[31],并应用薄层分离和双波长紫外分光光度法相结合,对平贝母、浙贝母、伊贝母和梭砂贝母进行了含量测定。结果显示4种贝母中均含有这2种核苷,且比例明显不同,伊贝母和平贝母中的腺苷约占总量的90%,梭砂贝母中的腺苷约占60%,而浙贝母中的腺苷约占40%,故认为浙贝母在临床上与其它贝母用法不同,可能与其核苷成分的含量差异有关^[32]。

3 皂苷类成分的评价

总皂苷的定量分析方法主要为重量法,评价情况见表3。

表3 总皂苷定量评价

品名	评价内容	参考文献
川贝母	组培鳞茎中总皂苷含量(0.81%) 高于原种鳞茎(0.50%);不同 部位含量趋势由高到低为:鳞 茎(0.48%)、果皮(0.36%)、鳞 芯(0.27%)、花(0.16%)和茎 杆(0.11);野生川贝一匹叶期 0.638%,花期0.516%	13,33,22
暗紫贝	总皂苷0.57%	22
太白贝母	总皂苷0.471%	22

4 小结和讨论

4.1 多年来对贝母及其制剂的内在质量评价取得一定进展,评价内容主要是对贝母总生物碱的含量测定,测定方法以酸性染料比色法最为常用。单体成分的测定以薄层扫描法测定最为常用,HPLC法测定单体生物碱受检测器的局限,其方法学仍需要深入研究。柱前衍生HPLC法虽取得一定进展,但实际应用还有不便之处(操作时间长,试剂昂贵)。GC法用于贝母单体生物碱的测定未有人尝试。

4.2 贝母内在质量的评价多涉及贝母药材、栽培品和组织培养物与野生品的比较、不同贝母种间比较等领域,而贝母制剂的质量评价和贝母有效成分的积累动态研究仍少见报道。贝母中核苷类成分、脂肪酸类成分的评价亦值得深入研究。而生物样品中贝母有效成分的分析仍是空白,有待探讨。

参考文献

- 章育中,等. 药学报,1962,9(9):541
- 张秀琴,等. 中草药通讯,1976,7(2):13
- 李 萍等. 中国药科大学学报,1990,21(5):319
- 阙良寿,等. 中草药,1984,15(8):30
- 郭信芳,等. 中草药,1986,17(10):47
- 孙文基,等. 西北植物学报,1987,7(3):212
- 张登科,等. 中草药,1988,19(4):35
- 刘舞霞,等. 药物分析杂志,1990,10(2):114
- 崔培章. 中药材,1990,13(7):3
- 李 萍,等. 中国药科大学学报,1990,21(3):319
- 李隆云,等. 中药材,1991,14(12):8
- 马云桐,等. 川药校刊,1991,(4):24
- 钟凤林,等. 中草药,1992,23(4):180
- 高山林,等. 中国药科大学学报,1992,23(3):144
- 饶伯麟,等. 中草药,1993,24(2):108
- 刘 萍,等. 中成药,1992,14(2):12
- 周雪林,等. 中国中药杂志,1992,17(5):270
- 张兆瑞,等. 中国中药杂志,1993,18(8):478
- 吴宗好,等. 中草药,1993,24(7):351
- 袁开来,等. 中草药,1993,24(7):369
- 丁青龙,等. 中国医院药学期刊,1994,14(8):358
- 赵德永. 中国中药杂志,1994,19(2):71
- 胡梅素,等. 中国中药杂志,1995,20(3):157
- 马长清,等. 中草药,1991,22(10):477
- 李 萍,等. 中草药,1991,22(5):205
- 徐雅娟,等. 中成药,1995,17(5):11
- 余世春,等. 植物分类学报,1992,30(5):450
- 晁若冰,等. 药学报,1993,28(9):705
- 李文彦,等. 中国药学期刊,1997,32(6):393
- Ding Kan, et al. J Pharm Sci, 1996, 85(11):1174
- 陈泽乃,等. 中国中药杂志,1996,21(7):420
- 徐汝明,等. 药学报,1997,32(8):617
- 钟凤林,等. 中国中药杂志,1994,19(12):713

(1999-01-27 收稿)

《中草药》杂志 2000 年改版启事

为了增加刊物的信息量,进一步与国际接轨,本刊从2000年第1期开始改为大16开本。另外,根据《中草药》杂志第六届编委会编委的建议,为了吸引更多的学术水平高的稿件,从2000年第1期开始,下列文章将优先发表:1)国家自然科学基金项目,国家、省、部级攻关项目,开放实验室研究项目等的优秀论文;2)有重要指导性意义或发表后具有广泛引用价值的文章;3)有重大发现,发表后准备报奖的文章;4)两院院士及博士生导师的文章。以上几类论文,来稿时请附证明材料的复印件。