

1. 5 mg/L 6-BA 的 LS 培养基上诱导愈伤组织,其出愈率可达 75. 2%,经不添加 2,4-D 的 LS 培养基培养可产生再生植株,共获得源于高皂素含量种质的试管苗 8 136 株,田间成苗 6 830 株,皂素含量达 2. 48%。这一结果表明源于高皂素含量的种质,经组织培养和田间种植,其无性后代的皂素含量仍能达

2. 48%,说明高皂素含量性状是能稳定遗传的,选育是成功的。

参考文献:

- [1] 乔春峰,檀爱民,董 辉,等. 国产闭鞘姜属植物中薯蓣皂甙元的含量测定 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31 (2): 156-158.
- [2] 丁志遵,唐世容,秦慧贞,等. 甾体激素药源植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.

RP-HPLC法同时测定丹参中丹参酮 II_A和隐丹参酮的含量

闫豫君¹,杨广德²,贺浪冲^{2*}

(1. 石河子大学药学院,新疆 石河子 832002; 2. 西安交通大学药学院,陕西 西安 710061)

摘要:目的 研究丹参药材中新质控指标。方法 采用细胞膜色谱法对丹参中的有效成分进行筛选,在此基础上建立 RP-HPLC法同时测定丹参中丹参酮 II_A和隐丹参酮含量的方法。色谱条件为 Lichrosorb C₁₈色谱柱,流动相为甲醇-水 (75: 25); 270 nm 下检测;流速 1. 0 mL/min,室温。药材用甲醇超声处理,过滤后直接进样分析。结果 丹参酮 II_A和隐丹参酮的回收率分别为 101. 74% 和 99. 28%,RSD 分别为 3. 68% 和 1. 78%。重现性的 RSD 分别为 1. 88% 和 1. 35%。所收集的 12 份丹参药材中丹参酮 II_A含量为 0. 607%~0. 148%,隐丹参酮为 0. 073%~0. 021%。结论 该方法快速、简便、准确,当丹参用于治疗心血管疾病时,可以同时将丹参酮 II_A和隐丹参酮作为丹参药材及其制剂的质控指标。

关键词: 丹参;丹参酮 II_A;隐丹参酮; RP-HPLC

中图分类号: R282. 7 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2002)04-0363-03

Quantitative determination of tanshinone II_A and cryptotanshinone in radix and rhizome of *Salvia miltiorrhiza* by RP-HPLC

YAN Yu-jun¹, YANG Guang-de², HE Lang-chong²

(1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi Xinjiang 832002, China; 2. College of Pharmacy,

Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shanxi 710061, China)

Key words radix and rhizome of *Salvia miltiorrhiza* Bge.; tanshinone II_A; cryptotanshinone; RP-HPLC

丹参为鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的根,具有祛瘀止痛,活血通经,清心除烦之功效^[1],为最常用的药材之一。文献报道丹参中的脂溶性部分具有抑菌^[2]、天然抗氧化、抗动脉粥样硬化及明显的抗肿瘤等药理作用^[3]。细胞膜色谱法^[4-6]是筛选中药有效成分的方法之一^[7],李洪玲^[8]等报道用犬心肌和血管细胞膜色谱模型筛选,并经血管动脉条和蛙心药理实验,表明隐丹参酮为丹参的主要活性成分之一。因此,丹参药材用于治疗心血管疾病时,隐丹参酮可以作为新的质控指标之一。有关丹参中丹参酮 II_A含量测定方法报道较多^[9,10],本研究在

活性筛选的基础上,建立了用 RP-HPLC法同时测定丹参酮 II_A和隐丹参酮含量的方法,并对 12 份不同产地丹参药材进行了测定。

1 仪器与试剂

1. 1 仪器: Waters 液相色谱仪 (包括 486 型紫外检测器, 510 型色谱泵, 7125 型手动进样阀, 美国); ANASTAR 色谱工作站 (奥康科技有限公司); AS5150A 超声仪 (奥特塞恩斯仪器有限公司)。

1. 2 试剂: 丹参酮 II_A (tanshinone II_A, TS) 和隐丹参酮 (cryptotanshinone, CT) 对照品 (中国药品生物制品检定所); 不同产地的丹参药材 (自购并由西

* 收稿日期: 2001-12-06

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目 (99SM43)

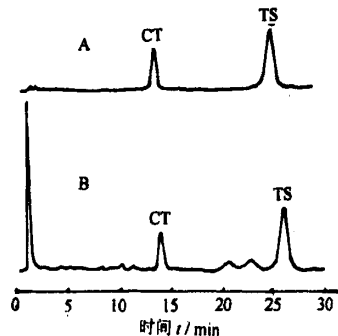
作者简介: 闫豫君 (1975-), 女, 助教, 1997 年从新疆师范大学化学系毕业至今在石河子大学药学院工作, 现在西安交通大学药学院攻读药物分析研究生, 从事天然药用植物的基础研究。

* 通信联系人 Tel: 029-5275142

安交通大学药学院生药教研室鉴定);色谱纯甲醇(美国 Fisher公司),水为三重蒸馏水(自制)

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Lichrosorb C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(75:25),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 270 nm,室温。在此条件下,理论塔板数按 CT和 TS计算分别不低于 3500和 4000 色谱图如图 1



A对照品混合溶液 B供试品溶液

图 1 丹参药材分析的典型色谱图

2.2 标准曲线制备:精密称取 TS 1.38 mg和 CT 4.5 mg 分别用甲醇配制成 0.138和 0.450 mg/mL 的对照品储备液。吸取 TS储备液 2.5 mL和 CT储备液 0.25 mL置 10 mL棕色容量瓶中并用甲醇定容至刻度,得 TS和 CT浓度分别为 0.046和 0.011 mg/mL的对照品混合溶液。由此稀释得到系列标准溶液,分别进样 20 μL,测定峰面积的积分值。同时以进样量(X)与峰面积(Y)进行线性回归,得到 TS和 CT的回归方程分别为: $Y = 149\,644X - 1\,951$ ($r = 0.999\,9$)和 $Y = 498\,521X - 1\,429$ ($r = 0.999\,6$),线性范围分别为 0.023~0.920 μg和 0.01~0.220 μg

2.3 稳定性实验:取 TS和 CT对照品的甲醇混合溶液,于配制后 5 d内连续测定,TS和 CT的 RSD 分别为 3.58%和 2.83%,基本稳定。

2.4 提取条件的选择:准确称取丹参药材(过 60 目筛)粉末 2份,每份 0.75 g,一份于具塞三角瓶中加甲醇 50 mL,称重,超声提取 1 h;另一份照《中华人民共和国药典》2000版(一部)的方法加热回流提取 1 h,2份样品均在放冷后补足损失重量,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品溶液。分别准确吸取供试品溶液 20 μL进样分析,测定 TS和 CT的峰面积,结果回流提取与超声提取的测定结果无显著性差异。超声提取操作简便易行且避免高温,故提取方法确定为甲醇超声提取 1 h

2.5 精密度:取同一份丹参供试品溶液 20 μL,重复进样 5次,测定峰面积积分值,结果 TS和 CT的 RSD 分别为 1.93%和 2.44%。

2.6 重现性:准确称取同一份丹参药材粉末(过 60 目筛)5份,平行进行提取测定,结果 TS和 CT的 RSD 分别为 1.88%和 1.35%。

2.7 回收率:准确称取同一已知含量的丹参样品 5份,各 0.30 g,分别准确加入对照品混合溶液 3 mL(含 TS 2.236 mg和 CT 0.350 mg),再分别加入甲醇 47 mL,照 2.4项下操作,在上述色谱条件下,测得 TS和 CT的回收率分别为 101.74%和 99.28%,RSD 分别为 3.68%和 1.78%。

2.8 样品测定:准确称取 12个产地丹参药材(过 60 目筛)粉末 0.30 g,于具塞三角瓶中加甲醇 50 mL,称重,超声提取 1 h,放冷,补足损失重量,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品溶液。准确吸取 20 μL进样分析,色谱图如图 1,结果见表 1

表 1 丹参药材中丹参酮 II_A和隐丹参酮含量测定结果(%)

编号	产地	丹参酮 II _A	隐丹参酮
1	河北阜平	0.607	0.073
2	河南新县	0.269	0.031
3	陕西商洲	0.501	0.062
4	陕西西乡	0.324	0.037
5	陕西镇安	0.215	0.029
6	陕西临潼	0.191	0.022
7	山西霍县	0.176	0.021
8	甘肃漳县	0.323	0.031
9	安徽亳州	0.354	0.042
10	安徽萧县	0.321	0.048
11	山东泰安	0.242	0.051
12	湖北房县	0.148	0.033
平均含量	$\bar{x} \pm s$	0.31 ± 0.14	0.040 ± 0.016

3 讨论

Okamura 等^[11]曾报道丹参酮类化合物的高效液相含量测定方法,采用梯度洗脱,氯仿-甲醇(2:1)混合液为提取剂,操作复杂。本文以甲醇为提取溶剂,超声提取 1 h,并采用等度洗脱同时分离测定了丹参酮 II_A和隐丹参酮的含量,基本消除其它杂质组分的干扰,操作简便易行,方法的回收率和重现性良好。

由于药材受生长环境、生长时间及加工条件等因素的影响,不同产地丹参药材中丹参酮 II_A和隐丹参酮的含量差别较大。如本文所收集的 12份丹参药材样本中,丹参酮 II_A和隐丹参酮的平均含量分别为 (0.31 ± 0.14)%和 (0.040 ± 0.016)%,与《中华人民共和国药典》2000版(一部)规定的丹参药材中丹参酮 II_A含量不得低于 0.20%相比,

12份药材中有 3份不符合规定标准 而当丹参用于治疗心血管疾病时,隐丹参酮亦是其主要活性成分之一,其在药材中含量的高低,直接影响治疗效果 通过对 12份样品中丹参酮 II_A和隐丹参酮的含量进行相关性分析,相关系数为 0.867,两种有效成分的含量基本相关。当丹参酮 II_A的含量大于 0.20% 时,隐丹参酮的含量应大于 0.029%,以此作为丹参药材的定量标准,从而更为有效的控制丹参及其制剂的质量

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 2000版. 一部.
- [2] 高玉桂,宋玉梅,杨友义,等. 丹参的药理[J]. 药理学报, 1979, 14(2): 75-81.
- [3] 梁勇,羊裔明,袁淑兰,等. 丹参酮药理作用及临床应用研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(4): 304-306.

- [4] 贺良冲,耿信笃. 细胞膜色谱法——研究药物与受体作用的新方法[J]. 生物医药色谱新进展, 1996, 3: 8.
- [5] He L C, Yang G D, Geng X D. Enzyme activity and chromatographic characteristics of cell membrane immobilized on silica gel surface [J]. Science Bull, 1999, 44(6): 632.
- [6] He L C, Wang S C, Geng X D. Coating and fusing cell membranes onto a silica surface and their chromatographic characteristics [J]. Chromatography, 2001, 54(1/2): 71-76.
- [7] 赵惠如,杨广德,贺浪冲,等. 用细胞膜色谱法筛选当归中的有效成分[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(1): 13.
- [8] 李洪玲,杨广德,贺浪冲. 心康平原料药的鉴别和含量测定[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(5): 348-351.
- [9] 张立海,宋友华,孙春华,等. 反相高效液相色谱法测定藟贞胶囊中丹参酮 II_A的含量[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 552-554.
- [10] 黄逸,张春丽,张幼成. HPLC法测定复方丹参片中丹参酮 II_A的含量[J]. 中草药, 2000, 31(2): 108-109.
- [11] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997.

蒺藜与混淆品软蒺藜的鉴别

陈伟启,李晓燕

(山东省药品检验所,山东 济南 250012)

《中华人民共和国药典》2000年版一部收载的蒺藜为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L.^[1] 的干燥成熟果实。最近我们在对一些医疗单位进行药品检查时,发现一种蒺藜的混淆品,经笔者鉴定为蒺藜植物中亚滨蒺藜 *Atriplex centralasiatica* Iljin^[2,3] 的干燥果实,称软蒺藜。现将二者比较鉴别如下:

1 性状鉴别

1.1 蒺藜:完整的果实由 5个分果瓣组成,放射状排列呈 5棱状球形,直径 0.7~1.2 cm,常分裂为单一的分果瓣。小分果呈斧状或橘瓣状,长 0.3~0.6 cm,宽 0.4~0.5 cm,厚约 0.3 cm,黄白色或黄绿色,背部弓形隆起,中间有纵棱及多数小刺,上部二侧各有一粗硬刺,长 0.4~0.6 cm,成“八”字分开,基部有 2个稍短的硬刺,二侧面积较薄,有网状花纹或数条斜向棱线。果皮坚硬。分果 1室,内有 3~4粒种子,呈长卵圆形稍扁,有油性。味微苦、辛。

1.2 软蒺藜:其胞果外被 2片宿存苞片,直径 0.4~1.4 cm,土黄色或浅绿色。果苞有 2种类型:一种呈扁平扇形,有 3条放射状隆起的主脉及网状细脉,无刺状突起;另一种果苞基部具珊瑚刺状突起,但不刺手,苞片上部无刺,呈扇形,边缘波状或稍成淡黄棕色至深棕色,一侧有喙状突起。果皮及种皮均薄,剥去后内有油质的胚与胚乳。气微酸咸

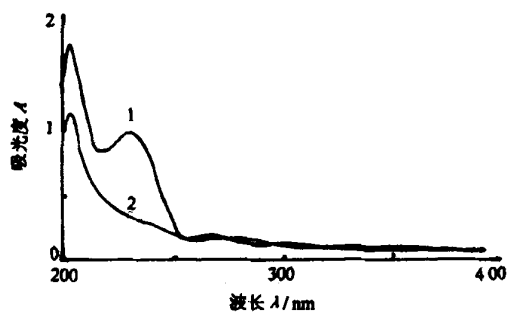
(图 1)



图 1 蒺藜和软蒺藜的果实

2 紫外光谱鉴别

蒺藜和软蒺藜粗粉各 0.5 g,置 50 mL三角烧瓶中,各加无水乙醇 30 mL,摇匀,密塞,冷浸 2 h,中间振摇 2次,滤过,取 10 mL置 25 mL量瓶中,加无水乙醇至刻度,以无水乙醇作空白,用岛津 UV-160A型紫外分光光度计扫描(图 2)



1蒺藜 2软蒺藜

图 2 蒺藜与软蒺藜紫外吸收光谱

3 小结与讨论