(6): 568-572.

[9] Sadtler Research Laboratories Inc. The Standard N M R Spectra [J]. 1983: 23073.

[10] Yoshikawa M, Wang H K, Kayakiri H, et al. Saponin and

sapogenol. XL structure of sophoraflavoside I, a bisdesmoside of soyasapogenol B from *Sophorae Radix*, the root of *Sophora flavescens* AITON [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33 (10): 4267-4274.

不同方法提取的知母总皂苷元气相-质谱分析

梁 卫文¹, 赵邦爱¹, 杨淑华¹, 吴惠勤^{2*}

(1. 深圳太太药业股份有限公司, 广东 深圳 518057; 2. 中国广州分析测试中心, 广东 广州 510070)

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎, 知母总皂苷元由知母药材经水解提取的总皂苷元精制而成, 具有清热泻火, 生津润燥, 止渴除烦作用^[1,2], 知母总皂苷元能明显降低衰老小鼠脑 β 受体-cAMP系统的反应性, 重现知母的下调作用^[3], 并且能提高衰老小鼠脑内受体密度^[4], 知母总皂苷元是深圳太太药业股份有限公司开发研究的中药二类新药, 主治现代医学中早、中期老年性痴呆症及脑功能减退(学习、记忆减退, 或某些性格改变)等见有以上症侯者。知母总皂苷元传统的提取法为: 先用酸水解, 再用汽油提取精制

近年来中草药的超临界 CO₂ 流体萃取已引起人们的广泛重视^[5], 我们开展了知母总皂苷元的超临界 CO₂ 流体萃取研究工作, 利用气相毛细管柱将各种成分分开, 并采用气相色谱-质谱分析超临界 CO₂ 流体萃取的知母总皂苷元的组成, 并与汽油提取的知母总皂苷元进行了比较。由于其组分中皂苷元相对分子质量均较大(416), 沸点高, 给色谱分离带来一定困难。经过摸索, 用耐高温非极性毛细管色谱柱, 选择较佳分离条件, 成功将其中异构体分开, 共鉴定了 7 个组份, 并以内标法测定了相对含量。

1 实验部分

1.1 仪器: HP6890GC/5973MS

1.2 实验条件: 色谱柱: HP-1(15 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 柱头压为 50 kPa; 分流比为 20:1; 柱温初始温度为 200 $^{\circ}$ C, 然后以 10 $^{\circ}$ C/min 的升温速率升至 285 $^{\circ}$ C; 进样口温度为 285 $^{\circ}$ C; GC-MS 接口温度为 280 $^{\circ}$ C; EI 离子源, 离子源温度为 230 $^{\circ}$ C, 电子能量为 70 eV; 电子倍增器电压为 1900 V; 质谱扫描范围为 29~450

1.3 试剂及供试品: 溶剂: 分析纯苯; 内标物: 胆甾醇; 菝葜皂苷元对照品(含量测定用)由中国药品生

物制品检定所提供; 知母总皂苷元由深圳太太药业股份有限公司制备; 980604 批为将知母药材经酸水解后用华安超临界萃取公司生产的 5 L 超临界萃取装置萃取; 980601, 980602, 980603 批为将知母药材经酸水解后汽油提取精制而成。

1.4 溶液配制: 标准溶液配制: 精密称取 15 mg 胆甾醇和 25 mg 菝葜皂苷元, 用苯定容至 1.0 mL 供试品液配制: 精密称取 15 mg 胆甾醇和 25 mg 供试品, 用苯定容至 1.0 mL

2 结果与讨论

2.1 知母总皂苷元的气相色谱-质谱总离子流图。针对每一个峰相应的质谱图, 利用计算机检索, 确定其化学结构, 见表 1

2.2 用内标法测定含量, 以胆甾醇为内标物, 准确测定菝葜皂苷元含量, 其他几种同分异构体因无对照品, 故以菝葜皂苷元为参照, 测定含量, 结果见表 1

表 1 3 批知母总皂苷元成分及含量表

标号	组份名称	含量 (%)			
		980601	980602	980603	980604
1	二十五烷	0.074	0.064	0.061	0.19
2	二十七烷	0.54	0.52	0.53	1.03
3	二十九烷	0.64	0.63	0.60	0.80
4	异菝葜皂苷元	9.64	9.46	9.91	9.64
5	菝葜皂苷元	76.59	75.98	76.68	76.87
6	新替告皂苷元	2.45	2.40	2.04	2.20
7	替告皂苷元	1.20	1.15	1.00	0.96
1S	胆甾醇	内标物	内标物	内标物	内标物

2.3 本法分离效率高, 测定结果准确可靠。测定了知母总皂苷元约 90% 的成分, 其余 10% 或者未气化, 或者含量太低, 未能检出。

2.4 薄层色谱分离能力较差, 而且鉴定成分需要对照品, 作为测定单一成分如菝葜皂苷元还可用^[6], 分离多成分分离能力就较差; 液相色谱-质谱分离力虽

(下转第 1101 页)

* 收稿日期: 2002-02-03

作者简介: 梁卫文(1969-), 中山大学硕士研究生毕业, 主要从事新药开发研究工作, 承担和完成多个新药的开发研究。

子宫重量与模型组无显著差异 ($P > 0.05$); 高、低剂量组子宫重量有显著差异 ($P < 0.05$)

表 3 各组垂体、卵巢与子宫重量 ($\bar{x} \pm s$) mg/100g 体重

组别	剂量 (g/kg)	n	垂体	卵巢	子宫
正常	-	9	3.12 ± 0.63	36.56 ± 8.32	266.03 ± 52.65
模型	-	9	1.35 ± 0.35*	26.29 ± 2.37	191.02 ± 30.63*
菟丝子	0.1	8	3.00 ± 0.70 ^{△△}	32.95 ± 4.19 [△]	274.45 ± 35.46 ^{△△}
	0.05	9	2.94 ± 0.73 ^{△△}	29.72 ± 5.24	218.6 ± 55.45 [▲]

与正常组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与菟丝子高剂量组比较: [▲] $P < 0.05$

4 讨论

中医认为卵巢功能降低与“肾”有密切关系,强调肾虚是该病的根本原因,治疗上多以补肾为主。现代中西医结合基础研究表明,“肾”与下丘脑-垂体-卵巢轴、与生殖内分泌相关;而应激是指机体在外界环境的不利因素或有害因素刺激下,机体出现神经内分泌和免疫系统等的综合应激状态,长期慢性应激可引起疾病,心理应激可引起生殖内分泌的改变^[4,5],继而引发诸多妇科内分泌疾病,如闭经、月经紊乱、不孕症、经前期综合症、无排卵、卵巢早衰等。

菟丝子的生殖内分泌调节作用已经有较多研究,对下丘脑-垂体-性腺轴功能有多方面的作用^[6];菟丝子黄酮可明显增加幼年雄鼠睾丸及附睾重量^[7];并发现其本身具有类雌激素样活性^[6];研究表明,菟丝子黄酮对正常雌性和雄性大鼠生殖内分泌都有作用^[8]。本文根据巴甫洛夫条件反射理论,在常用心理应激刺激方法^[9,10]上改进,利用声-光-电复合应激刺激方法,其中声-光作为复合条件信号刺激,电击足底为非条件刺激,产生条件反射性反应,即心理应激反应。随应激刺激时间延长,大鼠卵巢内分泌功能降低,表现为动情周期紊乱或延长,血清 E_2 , P

水平降低,动情期的垂体、卵巢、子宫重量变轻,而菟丝子黄酮对心理应激造成的卵巢内分泌功能降低有明显改善作用,如动情周期变得比较规则,血清 E_2 , P水平明显升高,动情期的垂体、卵巢、子宫重量均有不同程度增加,且呈药效与剂量的平行关系,即剂量依赖性。

肾上腺抗坏血酸含量与肾上腺皮质功能活跃程度、合成释放肾上腺皮质激素密切相关,是反映肾上腺皮质功能的经典指标。心理应激模型大鼠肾上腺抗坏血酸含量降低,表明此时肾上腺功能活跃,肾上腺皮质激素合成增加,但用菟丝子黄酮后,肾上腺抗坏血酸含量没有明显变化,提示补肾中药菟丝子黄酮的作用主要表现在对卵巢内分泌功能改善上,如果配合疏肝中药使用,可能出现更加理想的调节效果,其机制有待深入研究。

参考文献:

- [1] 赵瑞华,刘亚绵,杨琳,等. 补肾调经汤促排卵的临床研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(5): 264-266.
- [2] 金晓,李家实,阎文枚. 菟丝子黄酮成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(5): 292-294.
- [3] 陈奇. 中药药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [4] Biller E M, Federoff H J, Koenig J I, et al. Abnormal cortisol secretion and responses to corticotropin-releasing hormone in women with hypothalamic amenorrhea [J]. Clin Endocrinol Metab, 1990, 70(2): 311-317.
- [5] Russell G F. Psychological and nutritional factors in disturbances of menstrual function and ovulation [J]. Postgrad, 1972, 48(555): 10-13.
- [6] 李炳如,余运初. 补肾中药对下丘脑-垂体-性腺轴功能的影响 [J]. 中医杂志, 1984, 25(7): 63.
- [7] Qin D N, She B R, She Y C, et al. Effects of flavonoids of semen cuscuteae on the reproductive system in male rats [J]. Asian J Andrology, 2000, 2(2): 99-102.
- [8] 秦达念,余白蓉,余运初. 菟丝子黄酮对实验动物及人绒毛组织生殖功能的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(6): 349-351.
- [9] 严进,王春安,叶阿莉,等. 躯体性和心理性应激对大鼠血浆皮质酮变化的影响 [J]. 心理学报, 1991, (4): 418-425.
- [10] 刘焱虹,游国雄,阴大兴. 噪音刺激下 c-fos 癌基因表达及钙拮抗剂防护作用的研究 [J]. 中华神经科杂志, 1997, 30(1): 20-21.

(上接第 1073页)

然强,但是暂时还没有建立标准图谱库,没有对对照品,解谱困难;气相色谱-质谱有标准图谱库,计算机检索方便准确,完成本工作是最好的方法。

2.5 从分析结果来看,超临界 CO_2 流体萃取与汽油提取的知母总皂苷元组分与含量具有一致性,提示可用环保的超临界 CO_2 流体萃取法替代传统的汽油提取法。

参考文献:

- [1] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册 [M]. 北京: 中国医药出版

社, 1994.

- [2] 国家中医药局. 中华本草 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1998.
- [3] 丁元生,易宁育,夏宗勤. 中药知母有效组份—知母皂苷元“滋阴”作用的研究 [J]. 核技术, 1991, (5): 262-265.
- [4] 胡雅儿,易宁育,何路明. 知母对老年动物 M 受体数调整作用的机理 [J]. 中药药理与临床, 1994, (2): 10-13.
- [5] 刘莉枚,彭洪,离振德. 超临界 CO_2 萃取砂仁产物的化学成分研究 [A]. 第二届超临界流体技术学术及应用研讨会论文集 [C]. 广州.
- [6] 王天勇,杨文远. 反相液相色谱法分离和测定知母中菟丝子皂苷元 [J]. 中药材, 1996, (6): 460-461.