

H]峰,并伴有 m/z 739, 519, 359, 197碎片,推测 m/z 717为丹参酸乙的 $[M-H]^-$ 峰; $t_R=30.5$ min处出现 m/z 741(100%)峰,推测 m/z 741为紫草酸乙镁盐的 $[M-H]^-$ 峰。紫草酸乙镁盐是丹参中酚性酸的主要成分,具有纤溶作用和增强冠脉流量的作用;在 $t_R=27.7, 31.7$ min处,MS中均有 m/z 493 $[M-H]^-$ 峰,且它们的碎片离子相似,推测为紫草酸中的二氢喹啉环开环后脱水脱羧,形成的一组顺反烯烃异构体。

丹参中间体和注射液的 HPLC-MS谱图较丹参药材少,在 $t_R=9.8, 14.3$ min处分别出现 m/z 197 $[M-H]^-$ 峰和 m/z 359 $[M-H]^-$ 峰,与药材 HPLC-MS谱图相同。 $t_R=28.7$ min处 MS表现为 m/z 359 $[M-H]^-$ 峰,为迷迭香酸,药材中无此峰。 $t_R=28.7$ min处中间体和注射液 HPLC-MS谱图中未出现丹参酸乙的 m/z 717 $[M-H]^-$ 峰,但在 $t_R=30.5$ min出现较强的紫草酸乙镁盐 m/z 741 $[M-$

H]峰。另外,药材 HPLC-MS谱图中出现的丹参素脱水产物、紫草酸、紫草酸的脱水脱羧产物,在中间体和注射液的 HPLC-MS谱图中均未出现,从而进一步说明了丹参在制备过程中所含成分发生了较大变化。我们正对上述化学成分做进一步确证。

以 MS作为检测器,可以将色谱的保留值、响应值与化合物的相对分子质量信息结合起来,实现对各主要流出组分的定性,为药材、中间体和成品制剂的鉴别及质量评价提供更加全面、可靠的依据。

参考文献:

- [1] 谢培山. 中药制剂色谱指纹图谱(图像)鉴别[J]. 中成药, 2000, 22(6): 391-395.
- [2] 中国药典[S]. 2000年版. 一部.
- [3] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 第2卷. 北京:学苑出版社,1999.
- [4] 周长新,罗厚蔚,丹羽正武. 丹参水溶性化学成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 1999, 30(6): 411-416.
- [5] 孔德云. 丹参化学成分[J]. 中国医药工业杂志, 1989, 20(6): 279-285.
- [6] 郑国辉,柿泽宽. 丹参化学成分的研究概况[J]. 中国药学杂志, 1989, 24(1): 6-10.

麦冬总皂苷提取工艺的研究

周跃华,徐德生,冯怡,吴笑如,李谨谨*

(上海中医药大学,上海 200032)

摘要:目的 对麦冬总皂苷的提取工艺进行优化。方法 以麦冬皂苷 D的含量为指标,采用正交试验法对麦冬提取的条件进行考察。结果 通过试验找出了麦冬提取的优化条件。麦冬用 5~10目药材,加 10倍量 80%乙醇,热回流提取 3次,每次 1h。结论 此优选条件可充分提取麦冬总皂苷。

关键词:麦冬;皂苷;麦冬皂苷 D;正交试验

中图分类号: R284.2; R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2002)12-1076-03

Investigation on extract process for total saponins in root of *Ophiopogon japonicus*

ZHOU Yue-hua, XU De-sheng, FENG Yi, WU Xiao-tu, LI Jin-jin

(Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

Abstract Object To optimize the best extraction of the total saponins in the root of *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl. (RO). **Methods** The extract condition of total saponins in RO was observed by orthogonal design with ophiopogonis D as index. **Results** The optimum extract condition of RO was established. The more effective way was to smash RO to 5-10 mesh and extract total saponins in RO with ten times amount of 80% alcohol thrice by refluxing, one hour each time. **Conclusion** The total saponins in RO could be fully extracted in this condition.

Key words the root of *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl. (RO); total saponins; ophiopogonis D; orthogonal design

麦冬为百合科沿阶草属植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl.干燥块根,是常用

滋阴中药,始载于《神农本草经》,历代重要本草都有记载。具有养阴生津,润肺清心的功能,可用于热病

* 收稿日期: 2002-06-10

* 本校 1997级本科毕业生

伤津,心烦口渴等症。现代研究发现:麦冬含有甾体皂苷、高异黄酮、多糖、氨基酸等成分。麦冬及其制剂均具有一定的抗心肌缺氧、抗心律失常作用,临床用于冠心病、心绞痛取得一定疗效。本试验采用正交试验法对麦冬皂苷的提取工艺进行了考察,以期对麦冬的进一步开发利用提供参考。

1 仪器与材料

HP1100高效液相色谱仪(安捷伦公司); PL-ELSD 蒸发光散射检测器(英国 PL公司), SGK-2LB(5LB)低噪音空气泵(北京市精华苑技术研究所), RE52AA 旋转蒸发器(上海生化仪器厂)。

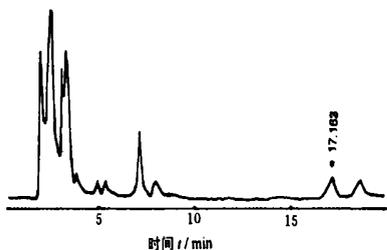
麦冬皂苷 D 对照品:日本昭和大学药学院生药及天然药化研究室伊田喜光教授提供。乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

浙麦冬购自上海药材公司徐汇区中药饮片厂,经上海中医药大学药教研室吴赵云副研究员鉴定。

2 麦冬皂苷的 HPLC-ELSD 测定

麦冬皂苷为甾体皂苷,在紫外区吸收较弱。我们采用将 UV 检测器与 ELSD 检测器串联的方法,比较了相同液相色谱条件下检测结果的差异,结果表明 ELSD 用于麦冬皂苷的检测在分离度、理论塔板数等方面显示出一定优点,故选择 HPLC-ELSD 对麦冬皂苷样品进行分析。

2.1 色谱条件: 色谱柱: Platinum C₁₈ 100A(5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm)(Alltech 公司); 流动相: 乙腈-水(42:58); 预柱: phenomenex part No. KJO-282(迪马公司); 柱温: 室温; 雾化温度: 65 $^{\circ}$ C; 蒸发温度: 80 $^{\circ}$ C; 气体流速: 1.5 SLM。色谱图见图 1。



* 麦冬皂苷 D

图 1 麦冬提取物的 HPLC-ELSD 图谱

2.2 样品制备方法: 取麦冬药材 5 g, 粉碎成粗颗粒, 置索氏提取器中用 95% 乙醇提取 6 h, 提取液回收乙醇, 用乙醚萃取 2 次, 再以水饱和正丁醇萃取 4 次, 正丁醇萃取液用 0.1 mol/L NaOH 萃取 2 次, 正丁醇液回收至干, 用甲醇溶解并定容至 5 mL, 即得麦冬粗皂苷样品。

2.3 标准曲线: 精密称取麦冬皂苷 D 对照品, 以甲

醇配成 0.91, 0.71, 0.30, 0.24, 0.196 mg/mL 的对照溶液, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积的对数与进样质量 (μ g) 的对数进行回归, 得回归方程为: $\ln M = 0.5874 \ln A - 4.1494$, $r = 0.9993$, 线性范围为 1.96~18.2 μ g。直接以峰面积对对照品的质量作回归分析, 线性方程为 $M = 206.7924A - 29108.4$, $r = 0.9899$ 。从线性方程的拟合情况看, 峰面积与进样量的相关性不如峰面积的对数与进样量的对数之间的相关性好。

2.4 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 20 μ L, 重复进样 5 次, 按上述色谱条件测定峰面积, 结果 RSD 为 1.77%。

2.5 重现性试验: 平行取同一样品 5 份, 按含量测定方法制备样品, 用上述色谱条件测定峰面积, 结果 RSD 为 3.6%。

2.6 回收率试验: 在已知含量的麦冬药材中加入一定量的麦冬皂苷 D 对照品, 按含量测定项下方法制备样品, 用上述色谱条件测定峰面积, 计算回收率, 结果平均回收率为 94.5%, RSD = 3.8% ($n = 5$)。

3 麦冬皂苷提取工艺

3.1 提取溶剂的选择: 取同批麦冬药材分别以水, 60%, 80%, 95% 乙醇提取, 提取液滤过, 滤液分别回收乙醇, 按 2.2 项下的方法制备样品, 测定麦冬提取物中麦冬皂苷 D 的含量(折算成相当于每克药材的含量, 使数据具可比性), 见表 1。结果表明 80% 乙醇提取较好。

表 1 麦冬皂苷提取用溶剂比较 ($n = 3$)

溶剂	麦冬皂苷 D (mg/g)
95% 乙醇	0.1004
80% 乙醇	0.1610
60% 乙醇	0.1370
水	0.0336

3.2 提取方法选择: 取同批麦冬药材分别用 80% 乙醇以热回流、索氏提取及渗漉法提取, 提取液分别回收乙醇并浓缩, 按 2.2 项下方法制备样品, 测定麦冬提取物中麦冬皂苷 D 的含量, 结果见表 2。回流法与索氏提取法相近, 均优于渗漉法。回流法提取麦冬皂苷 D 的量占索氏提取的 98.7%。

表 2 麦冬皂苷提取方法比较 ($n = 3$)

提取方法	麦冬皂苷 D (μ g/20 μ L)
回流	6.5830
渗漉	4.4997
索氏提取	3.3341

注: 表中回流、渗漉的样品定容为生药 2 g/mL, 而索氏提取的样品定容为生药 1 g/mL。

3.3 提取工艺的优选: 取麦冬药材 9 份, 按 L₉(3⁴)

正交试验表进行试验,分别提取(提取时间为每次 1 h),提取液按含量测定方法制备样品,测定麦冬皂苷 D 的含量,结果见表 3, 4, 5

表 3 因素水平表

水平	因 素		
	A加溶剂量(倍)	B药材粒度	C提取次数(次)
1	10	10~ 24目	1
2	8	5~ 10目	2
3	6	压扁整粒	3

表 4 麦冬皂苷提取正交试验表

试验号	A	B	C	D(误差)	麦冬皂苷 D ($\mu\text{g}/20\mu\text{L}$)
I	1	1	1	1	3. 803 4
2	1	2	2	2	4. 498 8
3	1	3	3	3	4. 093 9
4	2	1	2	3	3. 919 6
5	2	2	3	1	5. 169 6
6	2	3	1	2	3. 194 1
7	3	1	3	2	4. 535 8
8	3	2	1	3	3. 738 6
9	3	3	2	1	3. 101 8
I	12. 396 1	12. 258 8	10. 736 1	12. 074 8	C T= 144. 445 1
II	12. 283 3	13. 407 0	11. 520 2	12. 228 7	
III	11. 376 2	10. 389 8	13. 799 3	11. 752 1	
R	0. 340 0	1. 005 7	1. 021 1	0. 158 9	

表 5 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A	0. 208 5	2	0. 104 3	5. 283 7	
B	1. 546 1	2	0. 773 1	39. 164 1	$P < 0. 05$
C	1. 688 1	2	0. 844 1	42. 760 9	$P < 0. 05$
D(误差)	0. 039 5	2	0. 019 7		

$F_{0.05}(2, 2) = 19$ $F_{0.01}(2, 2) = 99$

从正交试验优选结果可见:影响麦冬皂苷提取的因素为提取次数>药材粒度>所用溶媒量,其中提取次数、药材粒度对麦冬皂苷的提取有显著影响,最佳提

取条件为 $A_3B_2C_3$,即用 5~ 10目药材,加 10倍量溶媒,提取 3次,每次 1 h,基本能提尽麦冬皂苷 D

4 讨论

目前麦冬皂苷单体的含量测定方法有 HPLC-UV 法、薄层扫描法、等吸收双波长消去法等,也有水解后测定皂苷元含量的方法,但水解法操作繁琐,且无法避免因水解不完全而引入的误差。由于麦冬皂苷在紫外区的吸收弱,仅在 208 nm 处有末端吸收,用 HPLC-UV 法检测,也有一定难度。

ELSD 是一种通用型检测器,流动相雾化后在加热管中蒸发,而流动相中的被检测物形成细小的颗粒,颗粒通过一狭窄检测光束时形成散射光,由光电倍增管收集放大,转换成电信号。ELSD 对不挥发性的被检测物均产生响应,因而适用范围较广^[1,2]。本实验采用 HPLC-ELSD 法测定麦冬皂苷 D 取得了较好效果。该法对麦冬药材及制剂的含量测定有一定应用价值。

实验中 5~ 10目药材提取量比 10~ 24目药材多,原因可能是:药材粒度小,表面积大,药渣吸附量增加,此外,提取时细小的麦冬药材颗粒中有粘性物渗出,相互间易粘结,对充分提取可能有影响。验证试验证实,按以上条件提取,药材中的麦冬皂苷可被基本提取完全。

致谢:麦冬皂苷 D 对照品为日本昭和大学药学院生药及天然药化研究室伊田喜光教授提供。

参考文献:

- [1] 魏 泱,丁明玉. 蒸发光散射检测技术 [J]. 色谱, 2000, 18 (5): 398-400.
- [2] 冯埃生,邹汉法,汪海林. 影响高效液相色谱挥发激光散射检测器检测性能基本因素的考察 [J]. 药物分析杂志, 1996, 16 (6): 414-417.

HPLC法测定蛇足石杉中石杉碱甲含量

孙远明,余红英*,杨跃生**,杨金易,张 明*
(华南农业大学食品科学学院,广东 广州 510642)

摘要:目的 考察蛇足石杉不同产地、不同部位中石杉碱甲(Hup A)和总碱含量;比较不同提取方法对石杉碱甲含量的影响。方法 采用 RP-HPLC法测定 Hup A 的含量。结果 Hup A 在根、茎、叶中的含量为茎、叶>根;贵州、广东和安徽产地的 Hup A 含量分别为 0. 018%、0. 021%、0. 020%,提取方法之间差异不显著。结论 Hup A 含量在蛇足石杉中的分布为地上部分大于地下部分。不同产地 Hup A 含量有一定差异。

关键词:蛇足石杉;石杉碱甲;石杉总碱;高效液相色谱

中图分类号: R286. 02 文献标识码: B 文章编号: 0253- 2670(2002) 12- 1078- 03

* 收稿日期: 2002-04-17

* 现在广东工业大学轻工化工学院 ** 本校生命科学学院