

作用

2.5 对共生菌的初步探讨: 共生菌是目前植物栽培学的一个研究热点。笔者曾跟有关单位联合, 提供菌种进行实验, 效果不太明显。2000年 3月, 我们自培菌种又重复 3次实验, 结果是对铁皮石斛刚从试管苗出瓶时, 下地对提高成活率有一定作用。但对后期提高产量似乎无更大效果。据分析我们认为对于刚出瓶的苗, 植株根部共生菌种类和数量都较少, 能够接受人为提供的部分共生菌, 而植株成活后一旦根部共生菌增殖饱和, 再继续给予共生菌, 植株也就不

再吸引。所以, 后期对促进产量并无明显效果。

References

[1] Yang X Z, Shao H, Zhou C, et al. Application of biotechnology in studies of medicinal plants *Dendrobium* Sw [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002 (2): 173-175.
[2] Fu K C, Lian S C, Feng D Q, et al. Application and exploit of *Dendrobium candidum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 9: 708-711.
[3] Wan K Z, Fan L, Guo W Y, et al. General research aspect on cultivation of medical *Dendrobii* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23 (6): 340-343.
[4] XU H, Wang Z G, Ding J Y, et al. General aspect of biotechnology about medical *Dendrobii* [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2001 (1): 1-4.

HPLC法测定不同产地山药中尿囊素的含量

白 雁, 朱风云, 王 东, 陈志红, 袁子民, 余振喜^②
(河南中医学院 分析测试中心, 河南 郑州 450008)

摘 要: 目的 测定不同产地间山药中尿囊素的含量。方法 采用 HPLC法, 色谱柱: Shimadzu ODS (150 mm×6.0 mm); 流动相: 甲醇-水 (10∶90); 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 35℃; 灵敏度: 0.005 AUFS; 检测波长: 224 nm; 纸速: 2.0 cm/min。结果 各产地山药中尿囊素含量差异较大。结论 该法快速、简便、重现性好, 为不同产地间山药中尿囊素的含量比较提供了依据。
关键词: HPLC; 山药; 尿囊素
中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0179-02

Determination of allantoin in *Rhizoma Dioscoreae* collected from different regions by HPLC

BAI Yan, ZHU Feng-yun, WANG Dong, CHEN Zhi-hong, YUAN Zi-min, YU Zhen-xi
(Analysis Testing Center of Henan College of TCM, Zhengzhou 450008, China)

Key words HPLC; *Rhizoma Dioscoreae*; allantoin

山药为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎。具有补脾养胃、生津益肺、补肾涩精的功能, 主治脾虚食少、久泻不止、肺虚喘咳、肾虚遗精、带下、尿频、虚热消渴等症^[1]。主产于河南, 在山西、河北、山东和云南等省也有栽培山药^[2]。山药含有薯蓣皂苷元和尿囊素等成分, 尿囊素能修复上皮组织, 促进皮肤溃疡和伤口愈合, 具有生肌作用, 可用于胃及十二指肠溃疡, 是山药有效成分之一^[3]。目前文献报道多对山药中尿囊素采用 HPLC法和薄层扫描法进行含量测定^[4,5], 但对不同产地山药中尿囊素的含量测定尚未见报道, 为此, 本文采用 HPLC法测定了不同产地山药中尿囊素的含量, 从而为山药的质量研究提供了依据。

1 仪器、试药和样品

岛津 LC-10AD 高效液相色谱仪, 岛津 SPD-10A 紫外检测器, 柱温箱 CTO-10A, 岛津 C-R7A 数据处理器, 微量进样器 (宁波市镇海玻璃仪器厂), 超声波清洗机; 甲醇为色谱纯 (天津四友), 水为重蒸水, 尿囊素对照品为 Sigma 公司产品; 山药采自于各产地, 经鉴定教研室陈随清博士鉴定。

2 实验部分

2.1 色谱条件: 色谱柱: Shimadzu ODS (150 mm×6.0 mm); 流动相: 甲醇-水 (10∶90); 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 35℃; 灵敏度: 0.005 AUFS; 检测波长: 224 nm; 纸速: 2 cm/min。
2.2 对照品溶液的制备及线性化范围试验: 取尿囊素, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 加重蒸水至刻度, 摇匀得对照品溶液 (0.164 mg/mL)。精密吸取

②收稿日期: 2002-05-31
基金项目: 河南省自然科学基金资助项目 (004025000)

对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μ L, 注入液相色谱仪, 照上述色谱条件分析, 以峰面积积分值 Y 为纵坐标, 尿囊素含量 X (μ g) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 318\,166.662\,1X - 213.517\,8$, $r = 0.999\,2$, 表明尿囊素在 0.164~1.640 μ g 线性关系良好。对照品及样品色谱图见图 1

2.3 稳定性试验 精密吸取上述对照品溶液 8 μ L, 每隔 30 min 进样一次, 记录峰面积积分值, 结果表明尿囊素在 2.5 h 内基本稳定 RSD 为 1.46% ($n = 6$)

2.4 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 8 μ L, 连续进样 5 次, 记录峰面积积分值, 结果表明精密度良好。 RSD 为 1.19% ($n = 5$)

2.5 重现性实验: 精密称取 2 号样品 5 份, 每份 0.5 g 左右, 按供试品溶液的制备方法处理后, 分别进样 5 μ L, 用外标法计算尿囊素含量, $RSD = 1.87\%$ ($n = 5$), 表明该法重现性良好。

2.6 加样回收率试验: 取已知含量的山药粉末 (100 目, 60 $^{\circ}$ C 干燥 3 h), 精密称定 0.25 g, 平行 5 份置 50 mL 磨口锥形瓶中, 各精密加入约 0.8 mg 尿囊素对照品, 其余照供试品制备方法操作, 最后用蒸馏水溶解并定容于 10 mL 容量瓶中, 作为加样回收供试品溶液, 用外标法测定, 计算结果尿囊素的平

均回收率为 97.06%, RSD 为 1.09% ($n = 5$)。

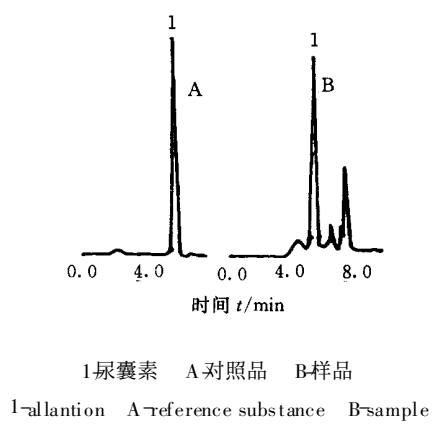


图 1 对照品及样品色谱图

2.7 供试品溶液的制备及含量测定: 取各产地山药样品 (100 目, 60 $^{\circ}$ C 干燥 3 h), 精密称定 0.5 g, 置 50 mL 磨口锥形瓶中, 加 70% 乙醇 10 mL 回流提取 45 min, 放至室温, 过滤, 回收乙醇至近干。残渣用蒸馏水溶解并定容于 10 mL 容量瓶中, 放置 0.5 h, 作为供试品溶液。取上述各供试品溶液于离心管中, 4 000 r/min 高速离心 10 min, 取上清液, 经微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 分别进样 5 μ L, 用外标法计算各产地山药中尿囊素的含量, 测定结果见表 1

表 1 山药中尿囊素的含量 ($n = 3$)
Table 1 Content of allantoin in *Rhizoma Dioscorea* ($n = 3$)

序号	产 地	含量 %	序号	产 地	含量 %	序号	产 地	含量 %
1	河南孟县	0.287	6	山东济宁	0.670	11	山西襄汾	0.276
2	河南武陟	0.520	7	山东单县	0.394	12	山西平遥	0.258
3	河南沁阳	0.644	8	山西太谷	0.449	13	陕西西安	0.105
4	河南温县	0.545	9	山西曲沃	0.447	14	河北安国	0.540
5	河南修武	0.191	10	山西汾阳	0.250	15	云南	0.459

3 讨论

3.1 样品提取方法曾用 70% 乙醇回流、甲醇直接超声、甲醇冷浸过夜超声进行比较, 结果采用 70% 乙醇回流尿囊素提取比较完全。进样前供试品溶液经高速离心、微孔滤膜滤过主要是去除一些沉淀下来的糖类、蛋白质等干扰性杂质, 有利于色谱峰分离。

3.2 流动相的选择以甲醇-氯仿-水 (0.5: 0.012: 100)、乙腈-水 (70: 30)、甲醇-水 (10: 90) 来进行考察, 结果后者系统分离较好, 色谱重现性好。

3.3 山药作为常用中药材, 在成方制剂中的定量指标少见报道, 尿囊素是山药中的活性成分之一, 本方法可为含山药制剂质量控制标准的制定提供参考。

References

[1] Wang B H, Jiang P F, Du H Y, *et al.* Determination of allantoin in common yam (*Dioscorea opposita*) by HPLC [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 1995, 18 (1): 67-68.

[2] Jiangsu New Medical College. *Dictionazy of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999.

[3] Liu B, Ma X S, Li F. A comparative study on chemical constituents in different processed products of *Dioscorea opposita* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1997, 20 (4): 185.

[4] Zhou X R, Cao J Y. Study on HPLC analytical method for allantoin in *Dioscorea opposita* [J]. *Chromatograph* (色谱), 1996, 14(3): 129.

[5] Zhou B H, Luo S D, Cai H S. Determination of allantoin in common yam (*Dioscorea opposita*) by TLC scanning [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25 (3): 132.