

均最长根长较短, $A_1B_1C_1$ 为 2.32 cm, $A_1B_2C_2$ 为 2.17 cm。从表 3 可推断出 3 个因素对平均最长根长的影响顺序是插条年龄(A) > 扦插基质(B) > NAA (C)。对提高平均最长根长而言, 最佳处理组合是 $A_2B_1C_1$, 即老枝用 1 000 mg/L NAA 速蘸 10 s 后插于河沙中。

3 讨论

3.1 NAA 处理(因素 C)是影响五加枝条秋季扦插繁殖的重要因素, 在全部 6 项指标中有 4 项指标的最重要影响因素是 NAA 处理。用 1 000 mg/L NAA 速蘸 10 s 能提高五加插条的成活率、萌芽率、生根率、平均根数和平均最长根长, 只有在平均梢长这个指标上 NAA 处理的反而不如用清水处理的, 但差异不显著。因此, 在扦插五加时可用 1 000 mg/L NAA 速蘸插条 10 s 后再行扦插, 效果较好。

3.2 插条年龄(因素 A)也是影响五加枝条秋季扦插繁殖的重要因素, 其影响力在 2 项指标上排第一, 在 4 项指标上排第二。在成活率、萌芽率、平均梢长、生根率、平均根数、平均最长根长共 6 项指标上, 2

年生或 3 年生的老枝均优于当年生的嫩枝扦插。因此, 扦插五加时宜选用健壮的老枝作插条。

3.3 基质(因素 B)对五加秋季扦插的影响在 6 项指标中表现不一致, 在生根率和平均根数这 2 项指标上红土基质优于河沙基质, 在另 4 项指标上河沙作基质的优于红土作基质的, 但均未达差异显著水平。故基质对五加扦插繁殖的影响不大, 河沙和红土均可作为五加扦插的基质。

3.4 综合直观分析结果, 推断出了 $A_2B_2C_1$ 和 $A_2B_1C_1$ 2 个较佳处理组合。在本试验所设的 4 个处理组合中已经包含了推断出的较佳处理组合 $A_2B_2C_1$ (即老枝用 1 000 mg/L NAA 速蘸 10 s 后插于红土中), 表 2 结果也证明了该处理对五加秋季扦插的效果是最佳的。

References:

- [1] Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. *List of Seed Plants in Yunnan Province* (云南种子植物名录) [M]. Kunming: Yunnan People's Press, 1984.
- [2] Wang L X. *Experiments and Statistics for Fruit Trees* (果树试验与统计) [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1995.

高效液相色谱-蒸发光散射法测定胡芦巴中薯蓣皂苷元

赵宇新¹, 李曼玲²

(1. 国家药典委员会, 北京 100061; 2. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

胡芦巴为较常用中药, 为豆科植物胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 的干燥成熟种子。具有温肾、祛寒、止痛的作用, 可用于肾脏虚冷、小腹冷痛、小肠疝气、寒湿脚气。胡芦巴中含有薯蓣皂苷元 (diosgenin) 和多种苷元为薯蓣皂苷元的皂苷类成分, 薯蓣皂苷元是合成多种甾体激素类药物和甾体避孕类药物的前体物质, 其本身也具有调血脂、平喘、抗炎和抗肿瘤的活性^[1]。薯蓣皂苷元分子式中没有共轭结构存在, 所以仅在紫外末端有一个中等强度的吸收峰。采用反相高效液相色谱-紫外检测法对其进行含量测定, 流动相可能会带来干扰, 基线状况也不理想。本实验根据薯蓣皂苷元的这一特性, 选择蒸发光散射检测器作为检测手段, 建立了胡芦巴中薯蓣皂苷元的高效液相色谱-蒸发光散射测定方法。

1 仪器和材料

HP1100 高效液相色谱仪(美国, 安捷伦公司); Alltech—500 型蒸发光散射检测器(美国, Alltech 公司); TL9000 色谱处理软件(北京泰立化科技公司); HGA—5000 空气发生器(北京, 汇龙昌海有限公司)。乙腈为色谱纯, 水为自制高纯水, 其他试剂均为分析纯。

胡芦巴药材均为市售, 经中国中医研究院中药研究所李曼玲研究员鉴定为豆科植物胡芦巴 *T. foenum-graecum* L. 的干燥成熟种子。薯蓣皂苷元对照品购自中国药品生物制品检定所(供含量测定用)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 固定相为 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4 mm, 5 μm), 柱温 40 °C; 乙腈-水 (95 : 5) 为流动相, 体积流量 0.8 mL/min; 蒸发光散射检测器检测, 漂移管温度 85 °C, 气体体积流量 2.60 L/

收稿日期: 2004-01-15

作者简介: 赵宇新(1979—), 男, 蒙古族, 内蒙古赤峰市人, 中药学硕士, 主要研究方向为中药成分分析和中药质量标准化研究。

min。此条件下,样品中的薯蓣皂苷元可以达到良好的分离(图 1)。

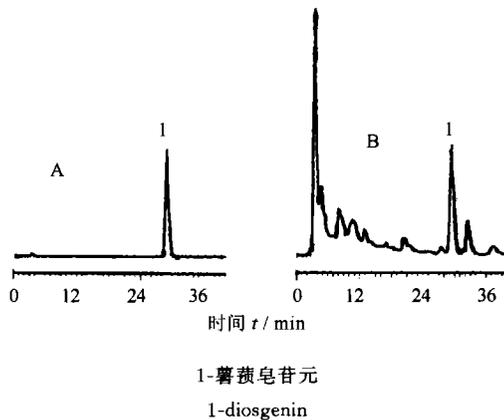


图 1 薯蓣皂苷元对照品(A)和胡芦巴样品(B)的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of diosgenin (A) and *A. foenum-graecum* sample (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称定薯蓣皂苷元对照品 1.98 mg 置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并加至刻度,摇匀,即得(薯蓣皂苷元 0.079 2 mg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备:取胡芦巴药材粉末(过 60 目筛) 1 g,精密称定,置于 50 mL 具塞三角瓶中,加入 3 mol/L 盐酸 40 mL,置 100 °C 水浴水解 3 h,放冷,抽滤,将残渣用 5% 碳酸钠溶液 20 mL 清洗数次,再用蒸馏水洗至中性,将残渣于 60 °C 烘干,置索氏提取器中,加石油醚(60~90 °C) 40 mL 提取 4 h,将石油醚液减压回收至干,残渣用甲醇溶解并定容于 10 mL 量瓶中,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.4 线性关系的考察:取薯蓣皂苷元对照品溶液,在上述同样色谱条件下,分别精密吸取 10、20、30、40、50 μL 进样,测定峰面积。以薯蓣皂苷元进样量的对数值为横坐标,以峰面积的对数值为纵坐标,绘制标准曲线并计算回归方程,标准曲线为 $Y = 1.703 1 X + 4.757 9$, $r = 0.999 8$,结果表明,薯蓣皂苷元在 0.792~3.96 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取供试品溶液 20 μL,在上述同样色谱条件下连续进样 5 次,测定薯蓣皂苷元为 1.62 mg/g,RSD 为 2.5%。

2.6 重现性试验:用同一批胡芦巴药材平行制备 5 份供试品溶液,在上述同样色谱条件下,分别吸取 20 μL 注入高液相色谱仪,测定薯蓣皂苷元为 1.61 mg/g,RSD 为 2.4%。

2.7 稳定性试验:取新制备的供试品溶液分别在 0、4、8、12、24 h 进样 20 μL,测定薯蓣皂苷为 1.59

mg/g,RSD 为 1.7%。结果显示供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验:采用加样回收法,取含薯蓣皂苷元为 1.61 mg/g 的胡芦巴药材粉末 0.5 g,分别精密称定,加入薯蓣皂苷元对照品,同样方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,平均回收率为 100.13%,RSD 为 1.9% ($n = 5$)。

2.9 含量测定:取不同的市售胡芦巴样品,制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液 20、50 μL 以及供试品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,用外标两点法对数方程计算薯蓣皂苷元的含量,见表 1。

表 1 不同市售胡芦巴样品中薯蓣皂苷元的含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Diosgenin in different samples purchased from different pharmacy markets ($n = 3$)

样品来源	薯蓣皂苷元/(mg · g ⁻¹)
同仁堂市售	1.35
永安堂市售	1.61
北新药店市售	1.94

3 讨论

3.1 通过以上结果可以看出,胡芦巴中薯蓣皂苷元的含量超过千分之一,可以作为质量控制的指标,本方法灵敏、准确,可以为胡芦巴质量控制提供参考。

3.2 在供试品溶液的制备过程中,曾对水解条件进行优选,通过对 1、2、3 mol/L 盐酸进行考察,发现盐酸浓度为 1 mol/L 时水解不够完全,2 和 3 mol/L 的结果无明显差异,以 3 mol/L 时结果稍高。在对水解温度考察时发现,100 °C 进行水解的结果要高于 85 和 70 °C 的结果。除此之外,还对水解时间和盐酸用量进行考察,最终确定供试品溶液的制备方法。

3.3 本实验选择蒸发光散射检测器作为检测手段对薯蓣皂苷元进行分析,可以克服薯蓣皂苷元在紫外末端检测时流动相带来的干扰,提高检测的灵敏度。蒸发光散射检测器受温度尤其是气体体积流量等参数的影响较大,色谱条件优选过程中,根据流动相的种类和比例,通过观察在不同漂移管温度和不同载气流速时色谱峰的信号强度,再结合基线的情况,最终确定蒸发光散射检测器的参数。在样品测定过程中,只要严格控制气体体积流量和保证气体的纯净度,每次用外标两点法进行标准曲线的校正,其测定结果可以达到很好的重现。

Reference:

[1] Fang Y W, Zhao J J, He Y Z. Elucidation of the chemical structures of two steroid sapogenins of *Dioscorea nipponica* Makino [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1982, 17(5): 388-390.