

西产生首乌粉末 0.1 g, 精密加入二苯乙烯苷对照品溶液 (0.33 mg/mL) 8.8 mL。按供试品溶液的制备操作, 测定, 求得平均回收率为 99.3%, RSD 为 1.34% ($n=5$)。

2.9 样品测定: 按上述色谱条件测定各样品中二苯乙烯苷的量, 结果见表 1。

表 1 不同产地何首乌中二苯乙烯苷测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside in *P. multiflorum* from different habitats ($n=3$)

生首乌		制首乌	
产地	二苯乙烯苷/%	产地	二苯乙烯苷/%
贵州	5.87	贵州	4.45
陕西	2.84	陕西	4.48
山西	2.28	山西	1.76
四川	4.22	四川	4.52
安徽	6.33	河南	0.59
河南	4.05	山东	1.23
		云南	0.30
		湖南	2.91

3 讨论

3.1 对不同产地生首乌的测定结果表明, 所检测的样品中二苯乙烯苷量均高于《中国药典》2005 年版规定, 因此这些药材的质量是可靠的。但不同产地的何首乌中二苯乙烯苷的量差异较大, 这可能与各产地的气候、土壤等环境条件有关。因此, 有必要对何首乌生长环境与有效成分的关系进行系统研究, 总

结出何首乌的最佳生长条件, 为何首乌的规范化栽培提供科学依据。

3.2 由于生首乌中含有较多结合蒽醌, 具有泻下作用, 所以临床上补肝肾多用炮制品。本研究表明, 不同产地制首乌中的二苯乙烯苷量差异较大, 其中, 陕西安康的制首乌最高为 4.48%, 云南产的制首乌仅为 0.30%。为了稳定制首乌的质量和疗效, 《中国药典》应制定制首乌中二苯乙烯苷的限量标准, 以免造成制首乌的良莠不齐。

3.3 一般认为, 何首乌经炮制后, 二苯乙烯苷的量降低^[3]。比较同一省份的生、制首乌中二苯乙烯苷的量, 发现其变化趋势并无规律, 这是由于药材的具体产地并不相同所致。如来自湖南的样品中, 长沙和湘潭的量分别为 2.91% 和 4.31%; 在产地明确的条件下, 制首乌的二苯乙烯苷量低于生首乌, 如采自贵州关岭的生首乌和该地的制首乌的量分别为 5.87% 和 4.45%。

References:

- [1] Liao H M, Hu Z H. Progress in studies on biology and constituents of *Polygonum multiflorum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36 (2): 311-314.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. Vol. 1, 2005.
- [3] Wang J K, Gao Y M, Chen H L. Determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-stilbene-2-O- β -D-glucoside in crude and prepared *Radix Polygoli Multiflori* [J]. *Stud Trace Elements Health* (微量元素与健康研究), 2004, 21 (4): 27-28.

不同产地胡芦巴中薯蓣皂苷元和亚油酸的比较研究

荆 宇, 赵余庆*

(辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 为豆科植物胡芦巴属胡芦巴的种子。始载于《嘉祐本草》, 归肾、肝经。其性温、味苦, 具有温肾壮阳、祛寒除湿等功效。主产于我国河北、安徽、四川、新疆、辽宁等地, 且南北各地均有栽培^[1]。有研究表明胡芦巴中含有丰富的甾体皂苷类成分, 胡芦巴中薯蓣皂苷元 (diosgenin) 和雅莫皂苷元 (yamogenin) 的量在 6~10 mg/g, 而此属其他植物中仅含 1.5~3.2 mg/g。油脂类成分是胡芦巴中一类重要成分, 其种子含油量为 7.5% 左右, 主要含有亚油酸等不饱和脂肪酸

类成分。

本研究首次采用 HPLC 和 GC 法对我国安徽泗县、河北安国、辽宁沈阳、吉林长春 4 个主要产地的胡芦巴种子中薯蓣皂苷元和亚油酸的量进行测定, 结果证明, 采用 HPLC 和 GC 法分析测定胡芦巴药材中薯蓣皂苷元和亚油酸的量, 方法可行, 结果稳定, 为胡芦巴药材的质量评价和控制及资源的综合利用提供了有效的方法和依据。

1 胡芦巴薯蓣皂苷元的测定

1.1 仪器与材料: 日立 L-7000 系列高效液相色谱

谱仪,日立L-7400紫外可见检测器,N-2000双通道色谱工作站。甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。薯蓣皂苷元对照品(中国药品生物制品检定所),胡芦巴药材分别购于安徽泗县、河北安国、辽宁沈阳、吉林长春,由本院植物研究室王冰教授鉴定为豆科植物胡芦巴属胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 的种子。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(95:5);检测波长:206 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温为:25℃;在选定条件下,薯蓣皂苷元色谱峰和样品中其他组分色谱峰可达基线分离,且与其他相邻色谱峰分离度大于1.5,按薯蓣皂苷元色谱峰计算,理论塔板数不低于45 000。色谱图见图1。

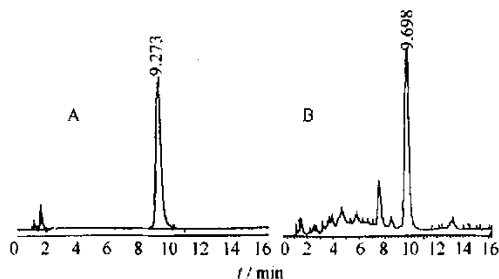


图1 薯蓣皂苷元(A)和胡芦巴样品(B) HPLC图

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

1.2.2 对照品溶液的制备:精密称取薯蓣皂苷元对照品5.26 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇使之溶解后,定容至10 mL,制成含薯蓣皂苷元0.526 mg/mL溶液,摇匀,备用。

1.2.3 供试品溶液的制备^[2]:各产地胡芦巴药材粉碎,60℃下干燥,精密称取3 g,置于索氏提取器中用石油醚(60~90℃)回流提取3 h,弃去石油醚液,残渣蒸干,准确转移到圆底烧瓶中,精密加入3%浓硫酸50%乙醇溶液10 mL,回流提取3 h,提取液滤过,滤渣用饱和的Na₂CO₃溶液中和,再用蒸馏水洗至中性,残渣于60℃下干燥,将干燥后的滤渣及滤纸一同置于索氏提取器中用石油醚(60~90℃)回流提取3 h;回收石油醚后的残渣加适量的甲醇溶解定量转移至10 mL量瓶中,用甲醇定容后,摇匀,即得。

1.2.4 线性关系的考察:精密吸取薯蓣皂苷元对照品溶液5、7.5、10、12.5、15、20 μL,按上述色谱条件测定峰面积。以薯蓣皂苷元进样量为横坐标,峰面积值为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程为:

$$Y = 90\,015.094\,3 + 290\,439.598\,0 X, r = 0.999\,7.$$

薯蓣皂苷元在2.63~10.52 μg线性关系良好。

1.2.5 精密度的试验:精密吸取薯蓣皂苷元对照品溶液(0.526 mg/mL)10 μL,重复进样5次,测定薯蓣皂苷元峰面积积分值,得其RSD为1.30% (n=5)。

1.2.6 稳定性试验:精密吸取同一胡芦巴供试品溶液5 μL,于0、2、4、6、8 h进样5次,测定薯蓣皂苷元峰面积积分值,得其RSD为0.71% (n=5)。结果表明供试品溶液在8 h内基本稳定。

1.2.7 重现性试验:精密称取同一胡芦巴样品3 g,按上述方法制备供试品溶液,平行制备5份,进样,测定薯蓣皂苷元峰面积积分值,得其RSD为2.09% (n=5)。

1.2.8 回收率试验:精密称定5份已知质量分数的胡芦巴样品1 g,按供试品溶液制备项下水解后洗至中性的残渣中加入0.526 mg/mL的薯蓣皂苷元对照品1 mL,继续按供试品溶液制备项下的方法用石油醚回流提取,测定薯蓣皂苷元峰面积积分值,计算平均回收率为99.1%,RSD为0.7% (n=5)。

1.2.9 样品测定:精密吸取供试品溶液,按上述色谱条件测定,每个样品测定3次,测定薯蓣皂苷元峰面积积分值,取平均值,按标准曲线法计算各样品薯蓣皂苷元的量,结果见表1。

表1 胡芦巴药材中薯蓣皂苷元和亚油酸测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of diosgenin and linoleic acid in *T. foenum-graecum* sample (n=3)

产地	薯蓣皂苷元/ (mg·g ⁻¹)	亚油酸/ (mg·g ⁻¹)	产地	薯蓣皂苷元/ (mg·g ⁻¹)	亚油酸/ (mg·g ⁻¹)
安徽	2.3	318.7	辽宁	4.9	332.7
河北	9.3	338.8	吉林	6.3	298.0

2 胡芦巴亚油酸的测定

2.1 仪器与材料:SP-2000A型气相色谱仪;N-2000双通道色谱工作站。亚油酸对照品购于美国Sigma公司;胡芦巴药材分别购于安徽泗县、河北安国、辽宁沈阳、吉林长春,由本院植物研究室王冰教授鉴定为豆科植物胡芦巴属胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 的种子。所用试剂均为分析纯。

2.2 方法与结果

2.2.1 色谱条件:色谱柱:DEGS填充柱(2 m×3 mm),涂布浓度为10%;温度:190℃;进样口和汽化室温度:230℃,载气:氮气;体积流量:20 mL/min,检测器FID,检测器温度230℃。在上述色谱条件下亚油酸和其他组分完全分开,保留时间约为14 min。色谱图见图2。

2.2.2 对照品溶液的制备:精密吸取亚油酸对照品

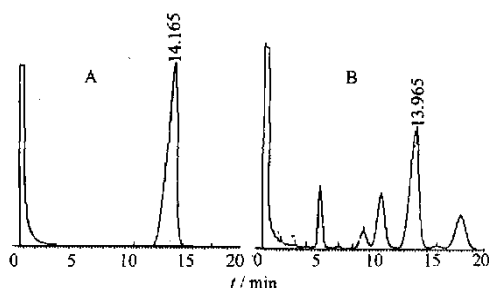


图 2 亚油酸对照品(A)和胡芦巴油样品(B) GC 图

Fig. 2 GC Chromatograms of linoleic acid (A)

and *T. foenum-graecum* oil sample (B)

40 μ L (含亚油酸 37.81 mg), 置 10 mL 量瓶中, 加入三氯化硼甲醇溶液 1 mL, 在 60 $^{\circ}$ C 水浴中酯化 5 min, 放冷, 精密加入正己烷 2 mL, 振摇, 加入饱和氯化钠溶液 2 mL, 摇匀, 静置, 待分层后取上层液作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备^[3]: 各产地胡芦巴药材粉碎, 精密称取 4 g, 置于索氏提取器中用石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)回流提取 3 h, 回收石油醚至干, 得胡芦巴油。分别精密吸取各产地胡芦巴油 100 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 加 0.5 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 2 mL, 在 60 $^{\circ}$ C 水浴中皂化 15 min, 待油珠溶解, 放冷, 加三氯化硼甲醇溶液 2 mL, 60 $^{\circ}$ C 水浴中酯化 5 min, 放冷, 精密加入正己烷 2 mL, 振摇, 加入饱和氯化钠溶液 2 mL, 摇匀, 静置, 待分层后取上层液作为供试品溶液。

2.2.4 线性关系的考察: 精密吸取亚油酸对照品溶液 1.6、2.4、3.2、4.0、4.8、5.6、6.4 μ L, 进样, 测定亚油酸峰面积积分值。以峰面积为纵坐标, 亚油酸进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为: $Y = 209\,352.589\,3 + 86\,512.090\,5 X$, $r = 0.999\,9$ 。亚油酸对照品在 30.248~120.992 μ g, 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验: 精密吸取亚油酸对照品溶液 (18.91 mg/mL), 进样 4 μ L, 重复进样 5 次, 测定亚油酸峰面积积分值, 计算得其 RSD 为 1.00%。

2.2.6 重现性试验: 精密称取 100 mg 同一产地胡芦巴油, 按供试品制备项方法制备供试品溶液, 重复 5 次, 测定亚油酸峰面积积分值, 计算得其 RSD 为 1.44% ($n=5$)。

2.2.7 回收率试验: 精密吸取已知质量分数的胡芦巴

油 (318.7 mg/g) 50 mg, 加入对照品溶液 0.2 mL (18.91 mg/mL), 按供试品溶液制备项下方法制备供试品, 进样, 测定亚油酸峰面积积分值, 重复 5 次, 计算平均回收率为 100.7%, RSD 为 1.70% ($n=5$)。

2.2.8 样品测定: 精密吸取供试品溶液, 按上述色谱条件测定亚油酸峰面积积分值, 每个样品测定 3 次, 取平均值, 按标准曲线法计算各样品亚油酸的量, 结果见表 1。

3 结论

3.1 本研究首次应用 HPLC 法对我国不同产地胡芦巴中薯蓣皂苷元的量进行测定, 结果表明河北产胡芦巴所含总皂苷经水解后产生的薯蓣皂苷元的量较高, 安徽产的薯蓣皂苷元的量较低, 胡芦巴皂苷经水解后薯蓣皂苷元的量在上述色谱条件下测定, 方法稳定可行。

3.2 本研究对硫酸和盐酸水解胡芦巴药材的效果进行考察。结果表明, 脱脂后药材经硫酸水解可使总皂苷水解基本完全, 薯蓣皂苷元量较高, 干扰峰少, 测定结果稳定; 而经盐酸水解后总皂苷水解不完全, 薯蓣皂苷元色谱峰受邻近其它色谱峰干扰严重, 影响测定结果。因此, 采用硫酸水解, 可获比较理解的结果。

3.3 胡芦巴药材全国各地均有栽培, 由于土壤、气候、种植等条件的差异使得其所含成分的量有所不同。研究选取安徽、辽宁、河北、吉林 4 个产地的样品, 对其中亚油酸的量进行了比较研究。胡芦巴中脂肪酸总量的 70% 为不饱和脂肪酸, 而其中亚油酸的量较高。经过对收集的不同产地的样品的测定, 结果以河北产药材所含亚油酸量较高, 而吉林产的量较低。应用气相色谱法可准确、快速地对胡芦巴油中所含成分进行定性、定量分析, 方法可行, 结果可靠。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986.
- [2] Li Z Q, Fu W, Lin R C, et al. Determination of diosgenin in three species of *Costus* by HPLC [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2001, 12 (4): 312-313.
- [3] Zhang H, Liu L, Zeng L L, et al. Determination the contents of fatty acid in the seeds of *Trigonella foenum-graecum* L. by GC-MS [J]. *J Xinjiang Med Univ* (新疆医科大学学报), 2003, 26 (3): 284.