

得两种成分的量已无差别,说明已提取完全。故确定最佳提取条件为:95% EtOH 索氏提取 10 h。

3.4 试验结果表明,不同产地丹皮中丹皮酚和去甲丹皮酚的量存在较大差异。丹皮酚的量以安徽亳州丹皮最高,而去甲丹皮酚的量以湖南邵东的丹皮最高。去甲丹皮酚亦为苯乙酮类化合物,其药理活性研究尚未见文献详细报道,但从结构考虑,应与丹皮酚具有相似的药效作用,因此,同时对丹皮中丹皮酚和去甲丹皮酚进行定量测定,有益于完善丹皮药材的质量评价体系。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Zhang L H, Xiao P G. Advance in studies of pharmacological effect and clinic on paeonol [J]. *Chinese J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1996, 16(3): 187-189.
- [3] Lin H C, Chen H M. Phytochemical and pharmacological study on *Paeonia suffruticosa* (1)-isolation of acetophenones [J]. *Chung-hua Yao Hsueh Tsa Chih* (中华药学期刊), 1991, 43(2): 175-177.
- [4] Masayuki Y, Toshio O, Atsuhiko K, et al. Bioactive constituents of Chinese natural medicines [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(9): 1327-1331.
- [5] Gao L X, Liang S Q, Wang L, et al. RP-TLC of paeonol and paeoniflorin in *Paeonia suffruticosa* [J]. *J Shandong Tradit Chin Med Coll* (山东中医学院学报), 1995, 19(4): 266-268.
- [6] Fang X C. Determination of paeonol in *Paeonia suffruticosa* by HPLC [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1989, 20(2): 109-110.

RP-HPLC 法测定薯蓣属植物中原薯蓣皂苷

刘中博¹, 王铁杰², 文琪璐³, 陈晓辉¹, 李 军², 毕开顺^{1*}

(1. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 深圳市药品检验所, 深圳 518029;

3. 广东药学院, 广东 广州 510000)

薯蓣属 *Dioscorea* L. 是薯蓣科中最大的一属, 分布于全球的热带和温带, 我国和墨西哥为主产国。其中穿山龙 *D. nipponica* Mak., 黄山药 *D. panthaica* Prain et Burk. 和山药 *D. opposita* Thunb. 均收载于《中国药典》2005 年版一部, 均以根茎入药。穿山龙和黄山药有祛湿、清热解痉的功效。穿山龙用于治疗风湿性关节炎, 腰腿疼痛、麻木, 大骨节病, 跌打损伤, 闪腰岔气, 慢性支气管炎, 咳嗽气喘^[1]。黄山药可治胃病、风湿性心脏病、风湿性关节炎、跌打损伤、牛马炭疽等病^[2]。山药可补脾养胃, 生津益肺, 补肾涩精。用于脾虚食少, 久泻不止, 肺虚喘咳, 肾虚遗精, 带下, 尿频, 虚热消渴^[1]。

薯蓣属植物有效成分主要为甾体皂苷类。其中原薯蓣皂苷对人类白细胞 HL-60 的 DNA、RNA 和蛋白质的合成及细胞生长有抑制作用^[3]。同时, 胡柯等^[4]也发现白血病、结肠癌和前列腺癌细胞株对原薯蓣皂苷最敏感, 而卵巢癌细胞株最不敏感。经 COMPARE 程序分析发现, 在美国国家癌症研究所 (NCI) 抗癌药筛选数据库中, 没有化合物的细胞毒作用与该成分相似, 表明该化合物可能有新的抗癌机制。原薯蓣皂苷属于呋喃甾烷型皂苷, 这类皂苷含糖量高、极性大、结构复杂, 难以分离和纯化。目前为

止, 对其的研究多停留在药理活性方面, 没有对这一类皂苷的定量测定方法, 因此建立其测定方法是非常必要的。本实验首次对原薯蓣皂苷 (protodioscin) 进行定量测定, 该方法不仅灵敏度高、专属性强、操作简单易行, 而且将质量控制与活性成分相结合, 为该属植物的质量控制提供了新思路、新尝试。

1 仪器与试剂

美国 Waters 2695 型高效液相色谱仪, 2996 型二级管阵列检测器和 Empower 工作站。

原薯蓣皂苷对照品自制, 经 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 确定结构为原薯蓣皂苷^[5]。质量分数为 99.5%。乙腈为色谱醇, 水为重蒸水 (自制), 乙醇为分析醇。

3 种药材分别购自沈阳天益堂药店、内蒙古万民药店、深圳市海王星辰连锁药店、辽宁省铁岭市药材有限公司、辽宁省清原县龙胆草研究所、吉林靖宁县综艺土特产产销中心及不同产地的药业公司, 经沈阳药科大学孙启时教授鉴定。产地见表 1。药材经 40 °C 干燥后, 粉碎过 24 目筛, 备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Xterra™ ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-水 (27 : 73) 为流动相, 体积

收稿日期: 2005-10-05

基金项目: 深圳市无偿资助科技项目 (S04055)

作者简介: 刘中博 (1980-), 女, 辽宁铁岭人, 在读硕士研究生, 从事药物分析研究。

* 通讯作者 毕开顺 Tel: (024) 23928487 Fax: (024) 21896050 E-mail: bikaisun@yahoo.com

流量 1.0 mL/min, 柱温 35 ℃, 检测波长 203 nm。理论塔板数以原薯蓣皂苷峰计算, 不低于 1 800。原薯蓣皂苷峰与相邻峰之间分离度大于 1.5, 对称因子 0.95~1.05。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取 10 mg 原薯蓣皂苷对照品, 置于 10 mL 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 称取药材粉末约 0.5 g, 置具塞 100 mL 锥形瓶中, 加入 10 倍量 35% 乙醇, 密塞, 称质量, 超声处理 30 min, 放冷再称质量, 用 35% 乙醇补足减失的质量。提取液滤过后蒸干, 残渣用 20 mL 水溶解, 定量转移至 125 mL 分液漏斗中, 加入醋酸乙酯萃取 2 次, 每次 20 mL, 收集水层, 加入水饱和正丁醇萃取 3 次, 每次 20 mL, 收集正丁醇层, 挥干, 残渣加水溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液备用, 即可。

2.4 标准曲线的绘制: 精密吸取 2.2 项下的对照品溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件测定峰面积。以对照品峰面积为纵坐标, 进样量 (μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 2.231 \times 10^5 X - 1.428 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果表明原薯蓣皂苷在 0.4~9.0 μg 与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验: 精密吸取上述对照品溶液 20 μL, 重复进样 6 次, 按上述色谱条件测定峰面积, RSD 为 0.2% (n=6)。

2.6 重现性试验: 取同一批样品, 精密称取 6 份, 按 2.3 项下操作, 依上述色谱条件测定原薯蓣皂苷的量, RSD 为 2.4% (n=6)。

2.7 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液, 在室温下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24、48、72 h 测定原薯蓣皂苷的量, 日内 RSD 为 0.3% (n=6), 日间 RSD 为 1.0% (n=4), 样品溶液在 72 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 精密称取 9 份已知含原薯蓣皂苷

量的药材粉末 0.25 g, 依次加入低、中、高 3 种质量浓度原薯蓣皂苷对照品溶液, 按 2.3 项下操作。在上述色谱条件下测定, 计算平均回收率为 100.1%, RSD 为 1.1% (n=9)。

2.9 样品测定: 分别取供试品溶液和对照品溶液, 在上述色谱条件下测定, 以外标法计算各样品中原薯蓣皂苷的量, 结果见表 1。代表性色谱图见图 1。

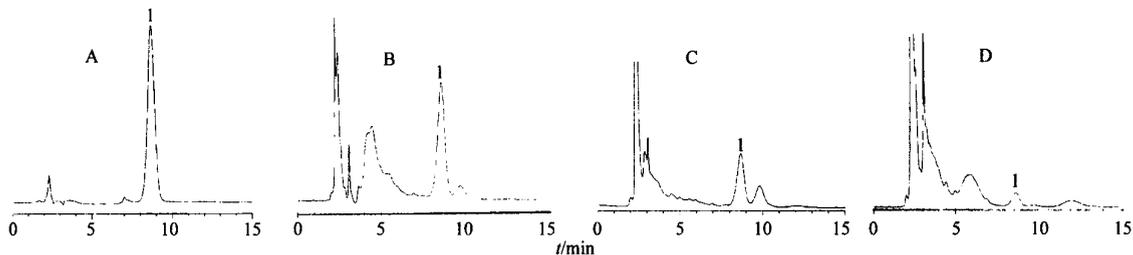
3 讨论

3.1 呋喃甾烷型皂苷是螺旋甾烷型皂苷的合成前体, 所以也被称为原皂苷 (protosaponin)^[6]。呋喃甾烷型皂苷很容易在酸、酶或受热的作用下水解。失去

表 1 薯蓣属 3 种植物中原薯蓣皂苷 (n=3)

Table 1 Protodioscin in three species of Dioscorea L. (n=3)

药材	产地	原薯蓣皂苷 / (mg · g ⁻¹)
穿山龙 <i>D. nipponica</i>	辽宁沈阳	19.45
	辽宁铁岭	27.05
	辽宁清原	26.51
	辽宁 I	22.04
	辽宁 II	20.85
	吉林 I	13.16
	吉林 II	16.87
	黑龙江 I	21.10
	黑龙江 II	20.78
	河南新乡	20.23
	河南信阳	12.53
	山西沁县	20.99
	山西临汾	23.57
	宁夏	17.30
	陕西	11.24
黄山药 <i>D. panthaica</i>	四川	11.24
	昆明	17.25
山药 <i>D. opposita</i>	河南 I	1.85
	河南 II	1.57
	中国药品生物制品鉴定所 (批号 121137-200402)	1.83



A-对照品 B-穿山龙 C-黄山药 D-山药 1-原薯蓣皂苷
A-reference substance B-*D. nipponica* C-*D. panthaica* D-*D. opposita* 1-protodioscin

图 1 对照品及样品色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference substance and samples

26-位葡萄糖基, F-环自动环合得到相应的次级皂苷, 所以应避免加热。而且 C-22-OH 易被甲基化, 不能用甲醇提取、溶解。因此本研究选择超声提取, 重蒸水溶解, 乙腈为流动相。

3.2 采用超声提取法, 考察了水, 35%、65%、95%乙醇作为提取溶剂的提取效果, 发现以 35%乙醇作为溶剂, 原薯蓣皂苷提取效率高, 干扰峰较少, 分离度较好, 故采用 35%乙醇作为提取溶剂。样品经溶剂提取后, 考察了直接进样、正丁醇一步萃取后进样、醋酸乙酯-正丁醇两步萃取后进样, 发现醋酸乙酯-正丁醇两步萃取后进样, 杂质干扰少, 重现性好。

3.3 该属植物中所含甾体皂苷类成分种类繁多, 结构相似, 在紫外区处于末端吸收, 分离难度较大。对于液相色谱条件, 曾考察了不同填料的色谱柱, 不同比例的甲醇-水、乙腈-水、乙腈-醋酸水溶液、乙腈-甲醇-水等流动相, 结果表明以 Xterra™ ODS 为固定相, 乙腈-水(27:73)为流动相, 分离效果最好, 灵敏度高。通过二极管阵列检测器检测, 色谱峰纯度良好, 分析方法具有专属性。

3.4 首次采用 RP-HPLC 方法测定穿山龙及其同属植物中原薯蓣皂苷, 结果显示穿山龙富含原薯蓣皂苷, 质量分数为 11.24~27.05 mg/g, 黄山药次之, 山药较少。该方法简便、快速, 可用于该生药、提取物及其制剂的质量控制。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 16. Beijing: Science Press, 1985.
- [3] Shao Y, Poobrasert O, Kennelly E J, et al. Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity [J]. *Planta Med*, 1997, 63(3): 258-262.
- [4] Ke H, Yao X S. Protodioscin (NSC-698796): Its spectrum of cytotoxicity against sixty human cancer cell lines in an anticancer drug screen panel [J]. *Planta Med*, 2002, 68: 297-301.
- [5] Hu K, Dong A J, Yao X, et al. Antineoplastic agents; I. Four furostanol glycosides from rhizomes of *Dioscorea collettiivar hypoglauca* [J]. *Planta Med*, 1997, 63: 161-165.
- [6] Zhang J B, Hui Y Z. Recent progresses in research of furostanol saponins [J]. *Chin J Org Chem* (有机化学), 2000, 20(5): 663-668.

浙产猕猴桃属植物根、茎、叶中多糖的比较

吴瑾瑾¹, 石森林², 张小寅², 魏颖慧²

(1. 杭州第四医院, 浙江 杭州 310003; 2. 浙江中医学院, 浙江 杭州 310053)

近年来, 猕猴桃属 (*Actinidia* Lindl.) 药用植物资源种类及药理作用日益受到国内外医药界的重视, 其中浙江产的主要有中华猕猴桃 *A. chinensis* Planch.、缙合猕猴桃 *A. valvata* Dunn、大籽猕猴桃 *A. macrosperma* C. F. Liang、毛花猕猴桃 *A. eriantha* Benth.、软枣猕猴桃 *A. arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. et Miq.、长叶猕猴桃 *A. hemsleyana* Dunn、葛枣猕猴桃 *A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、异色猕猴桃 *A. callosa* Lindl. var. *discolor* C. F. Liang 等, 其中前 4 种在浙江资源相对较丰富, 药材主要有藤梨根(中华猕猴桃的根)和猫人参(缙合猕猴桃、大籽猕猴桃的根)。现代药理研究发现猕猴桃属多糖成分具有抗肿瘤、增强免疫机能、消除活性氧自由基等作用, 且无副作用。随着其药用价值的凸现, 猕猴桃属药材利用率增加, 由于药用部位为根, 造成其自然资源人为破坏严重, 为了科学合理地利用药材资源,

笔者对浙江主产的猕猴桃属植物中华猕猴桃、缙合猕猴桃、毛花猕猴桃和大籽猕猴桃的根、茎、叶含多糖的量进行比较, 以寻找新的药用部位。

1 仪器、材料和试剂

1.1 仪器: 万能粉碎机(河北黄骅齐家务科学仪器厂); CQ250 超声清洗器(上海船舶电子设备研究所); 国家统一标准筛(浙江上虞华康化验仪器厂); 电子天平 AR1140/C(奥豪斯); 751-GW 分光光度计(安捷伦科技上海分析仪器有限公司); DKS-24 型电热恒温水浴锅(沈阳中新电器厂)。

1.2 材料和试剂: 药材来自猕猴桃科猕猴桃属的缙合猕猴桃、大籽猕猴桃、毛花猕猴桃、中华猕猴桃, 均产自浙江, 由罗国海副教授鉴定; D(+)葡萄糖购自中国生物制品检定所。硫酸(中国浙江衢州巨化试剂有限公司)、碳酸氢钠(中国上海虹光化工厂)、苯酚(浙江杭州双林化工厂), 以上均为分析纯; 铝片