

不需衍生、直接测定的高效液相色谱-示差折光检测分析方法,该方法简便、快速,可用于桑叶、桑枝、桑白皮及其相关保健食品中1-脱氧野尻霉素的测定。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Yoshiaki A, Hivomu M. The structure of moranoline, a piperidine alkaloid from *Morus* species [J]. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, 1976, 50(11): 571-573.
- [3] Lei X Y, Huang H H. The update on the pharmacological activities and synthetic methods of 1-deoxynojirimycin and its derivatives [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17(6): 68-72.
- [4] Ou Y Z, Chen J. Determination of 1-deoxynojirimycin in

Morus alba L. leaves in different seasons [J]. *Food Sci* (食品科学), 2004, 25(10): 190-193.

- [5] Kim J W, Kim S U, Lee H S, et al. Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Chromatogr A*, 2003, 1002(1-2): 93-99.
- [6] Chen Z Y, Xiao G S, Chen W D, et al. Determination of 1-deoxynojirimycin in yellow blood silkworm by ion chromatography [J]. *Food Sci* (食品科学), 2004, 25(5): 129-130.
- [7] Kimura T, Nakagawa K, Saito Y, et al. Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(6): 1415-1418.

不同产地防风中4种色原酮成分比较研究

刘双利,张春红,张连学*

(吉林农业大学中药材学院,吉林 长春 130118)

防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 未抽花茎植株的干燥根,主产于东北地区和华北地区。防风始载于《神农本草经》,列为上品,辛、甘、温,归膀胱、肝、脾经,解表祛风、渗湿、止痉,主要用于感冒头痛、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风等^[1]。现代药理研究表明防风色原酮类成分具有解热、镇痛、镇静、抗炎、抗肿瘤、抗血小板聚集等多种功效^[2,3],用于治疗脑震荡、小儿呼吸道感染、过敏性皮炎、面神经炎、牙痛等^[4]。《中国药典》2005年版防风项下规定了防风中升麻苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷两种色原酮总量不得低于0.24%,在质量评价体系中也主要以两种色原酮成分的量作为评价指标,而对升麻素和亥茅酚苷二者没有规定量的限度。为此笔者对所采集的不同产地防风样品中4种色原酮的量进行测定分析,为其质量控制提供有效的检测方法,从而为评价不同产地防风品质提供科学依据。

1 仪器与试剂

LC-10ATvp 高效液相色谱仪;SPD-10Avp 紫外检测器;N2000 双通道色谱工作站(浙江大学智达信息工程有限公司);LD5-2A 离心机(北京医用离心机厂);KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。升麻苷和5-O-甲基维斯阿米醇

苷对照品(中国药品生物制品检定所,供定量测定用,批号分别为1522、1523),升麻素和亥茅酚苷对照品(中国中医研究院中药研究所,质量分数均大于98%);甲醇(Fisher公司)为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。防风药材来源见表1,样品均经本院张连学教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:SHIM-PACK VP-ODS 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇(A)-水(B)梯度洗脱程序:0~20 min A 由30%~45%,20~25 min A 由45%~60%,25~50 min A 由60%~90%;体积流量1 mL/min;波长254 nm;进样量20 μL;柱温40℃^[5]。在此色谱条件下,4种色原酮混合对照品储备液和防风药材色谱分离结果见图1,可见防风药材中4种色原酮得到了基线分离。

2.2 混合对照品溶液的配制:精密称量升麻素苷3.4 mg,5-O-甲基维斯阿米醇苷4.4 mg,升麻素4.4 mg,亥茅酚苷4.2 mg置于10 mL量瓶中,加甲醇至刻度线,摇匀备用。分别精密量取0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mL定容于5 mL量瓶中。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取防风药材粗粉0.5 g,置于15 mL离心管中,精密加入甲醇10 mL,浸泡过夜。超声提取30 min,4 500 r/min 离心15

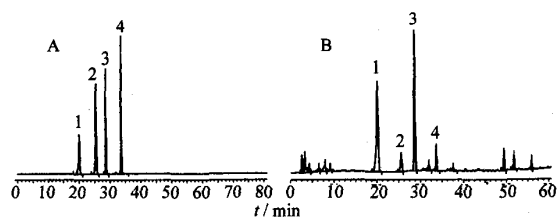
收稿日期:2006-08-10

基金项目:国家“十五”攻关项目(2001BA701A62-6)

作者简介:刘双利(1980—),男,内蒙通辽人,医学硕士,研究方向为天然产物化学研究及其质量控制。

Tel:13504468873 E-mail:ls10431@yahoo.com.cn

* 通讯作者 张连学 Tel:(0431)84533086 E-mail:zlxbooksea@163.com



1-升麻苷 2-5-O-甲基维斯阿米醇苷 3-升麻素 4-亥茅酚苷
1-cimicifugoside 2-5-O-methylvisammioside 3-cimifugin
4-sec-O-glucosyhamaudol

图 1 对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of reference substances (A) and sample (B)

min,取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,滤液即为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察:精密依次吸取混合对照品溶液 5 个不同质量浓度进行 HPLC 分析,在上述色谱条件下检测峰面积,同一质量浓度连续测 3 次,以对照品溶液质量浓度为横坐标(X),平均峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,分别得回归方程升麻苷: $Y = -46\,979.84 + 43\,584\,584.20 X$, $r = 0.999\,9$; 升麻素: $Y = 14\,731.63 + 70\,989\,048.59 X$, $r = 0.999\,9$; 5-O-甲基维斯阿米醇苷: $Y = 30\,942.10 + 48\,949\,726.59 X$, $r = 0.999\,9$; 亥茅酚苷: $Y = 256\,777.93 + 59\,689\,971.49 X$, $r = 0.999\,1$ 。线性范围分别为 0.013 6~0.217 6、0.017 6~0.281 6、0.017 6~0.281 6、0.016 8~0.0268 8 mg/mL。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 20 μL,按色谱条件检验 5 次,记录 4 种色原酮的峰面积,

计算各质量分数,结果升麻苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、升麻素及亥茅酚苷的 RSD 值分别为 1.48%、2.94%、2.12%、3.15%。

2.6 稳定性试验:精密吸取混合对照品溶液 20 μL,分别在 0、3、6、9、12 h 进行分析,分别计算所含升麻苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、升麻素及亥茅酚苷的量,RSD 值分别为 2.47%、3.24%、2.12%、1.95%。表明 12 h 内 4 个对照品稳定性良好。

2.7 重现性试验:精密称取同批样品 5 份,按上述操作方法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液,按色谱条件检验 5 次,每次进样 20 μL。计算 4 种色原酮峰面积积分的 RSD 分别为 1.30%、2.14%、1.97%、3.02%。

2.8 回收率试验:取已测定量的供试品 5 份,每份 0.5 g,分别加入定量的升麻苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、升麻素及亥茅酚苷对照品,按上述色谱条件测定 3 次,计算回收率,结果升麻苷平均回收率为 100.53%,RSD 为 2.11%($n=3$);5-O-甲基维斯阿米醇苷平均回收率为 100.19%,RSD 为 2.65%($n=3$);升麻素平均回收率为 101.6%,RSD 为 1.26%($n=3$);亥茅酚苷平均回收率为 97.95%,RSD 为 2.51%($n=3$)。

2.9 样品测定:精密称取不同来源的 11 份防风药材粗粉 0.5 g,精密加入甲醇 10 mL,按上述供试品溶液制备,进样量 20 μL,测定色谱峰峰面积,根据标准曲线计算其量,结果见表 1。4 种色原酮成分的相关性分析见表 2。

表 1 样品来源及其测定结果($n=3$)

Table 1 Origin and determination of samples ($n=3$)

序号	样品产地	升麻苷/%	5-O-甲基维斯阿米醇苷/%	升麻素/%	亥茅酚苷/%	总量/%
1	辽宁新宾	0.263 1 f	0.286 7 b	0.135 2 a	0.043 8 a	0.728 8 c
2	辽宁新宾	0.479 6 a	0.171 7 e	0.123 1 b	0.014 5 f	0.787 9 b
3	黑龙江王冈	0.231 5 g	0.157 1 f	0.011 8 f	0.012 9 g	0.413 3 g
4	河北安国	0.370 7 d	0.134 7 g	0.002 7 j	0.027 8 d	0.535 9 e
5	乌兰浩特	0.373 6 d	0.132 5 g	0.003 6 h	0.007 1 g	0.516 8 f
6	吉林农业大学	0.371 2 d	0.134 7 g	0.002 7 h j	0.028 0 d	0.536 6 e
7	吉林长岭	0.296 5 e	0.201 3 d	0.004 9 g	0.013 1 g	0.515 8 f
8	吉林安图	0.396 2 b	0.394 9 a	0.036 5 d	0.037 1 b	0.866 0 a
9	山西侯马	0.263 0 f	0.240 2 c	0.035 3 d	0.032 7 c	0.571 3 d
10	甘肃陇西	0.119 8 h	0.183 6 h	0.029 2 e	0.026 7 g	0.359 3 h
11	安徽亳州	0.386 8 c	0.171 3 e	0.003 6 h	0.001 5 k	0.563 2 d

编号 1 为野生品;相同字母间样品量差异不显著,不同字母间样品量差异显著($P<0.05$)

No 1 is uncultivated species; There are no noticeable difference among quantity of same numbers, there are noticeable difference among quantity of different numbers ($P<0.05$)

3 讨论

3.1 色谱条件的优化:《中国药典》2005 年版规定防风项下,采用回流法进行前处理,操作较为繁琐,本

研究通过超声波提取进行前处理,经试验表明 30 min 提取完全,且建立的 HPLC 法适合 4 种色原酮成分的定量分析,方法简单可靠。

表 2 样品中 4 种色原酮量的相关性分析

Table 2 Analysis of relativity for four chromones in samples

	升麻苷	5-O-甲基维斯阿米醇苷	二者之和	升麻素	亥茅酚苷
5-O-甲基维斯阿米醇苷	-0.025 9				
二者之和	0.772 4**	0.614 9*	-		
升麻素	0.110 4	0.401 8	0.321 4		
亥茅酚苷	-0.257 3	0.620 4*	0.260 5	0.420 5	
总量	0.645 2*	0.680 3*	0.940 8**	0.620 7*	0.182 5

$$R_{0.059}=0.602^*, R_{0.019}=0.735^*$$

3.2 指标性成分的选择: 中药所含的化学成分极其复杂, 而且在治疗疾病方面中药多个活性成分一起具协同作用, 一个成分很难代表一种单味药的功效, 因此选用尽可能多的成分来评价药材质量和确保药材的临床效果, 这 4 个化合物是防风中最主要的色原酮类成分, 对其进行定量分析是十分必要的。

3.3 样品分析: 不同产地防风的测定结果(表 1)表明, 所检测的样品中升麻苷与 5-O-甲基维斯阿米醇苷总量均高于《中国药典》2005 年版规定, 因此这些药材的质量是可靠的, 从升麻苷与 5-O-甲基维斯阿米醇苷的量上分析, 甘肃和新宾(野生)的 5-O-甲基维斯阿米醇苷的量比升麻苷的量高, 而其他的防风升麻苷的量均比 5-O-甲基维斯阿米醇苷的量高, 且均有显著性差异($P<0.05$); 从升麻素和亥茅酚苷的量上看, 二者的量相对与升麻苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷的量明显低, 辽宁产地栽培和野生防风样品的量均较高, 且具有显著性差异, 明显看出野生防风中升麻素的量是相当高的; 综合 4 种色原酮成分的量上看, 产地不同防风中的量差异较大, 其中吉林安图的样品量最高为 0.866 0%, 而甘肃栽培防风样品量仅为 0.359 3%,

且 4 种色原酮大致有如下规律: 升麻苷>5-O-甲基维斯阿米醇苷>升麻素>亥茅酚苷。

3.4 从表 2 可以看出, 4 种单个色原酮量之间不存在相关性; 升麻苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷和升麻素均与 4 种色原酮总量达到 $R_{0.05}$ 的显著水平; 升麻苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷之和与 4 种色原酮总量达到 $R_{0.01}$ 的显著水平; 升麻苷与二者之和(升麻苷与 5-O-甲基维斯阿米醇苷之和)达到 $R_{0.01}$ 的显著水平。综合分析, 升麻苷应为防风中指标性的色原酮成分, 在质量评价中, 如果只考虑 4 种色原酮量, 则可以用升麻苷与 5-O-甲基维斯阿米醇苷之和代替 4 种色原酮总量进行质量评价。

3.5 不同产地防风药材中 4 种色原酮成分量存在很大的差异, 这可能与各产地的气候、土壤、种植等环境条件有关, 因此有必要对防风药材的生长环境与有效成分进行系统研究, 总结出防风的最佳生长条件, 为防风规范化种植提供科学依据。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Zhang G J, Zhang Y B, Li Y, et al. Research survey of crude drugs *Saposhnikovia divaricate* near 10 years in our country [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1997, 8 (1): 73-75.
- [3] Okuyama E, Hasegawa T, Matsushita T, et al. Analgesic components of *Saposhnikovia divaricate* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(2): 154-160.
- [4] Gao Y L. Chemical constituents and their pharmacological research progress in crude drugs of *Saposhnikovia divaricate* [J]. *J Shanxi Med Univ* (山西医科大学学报), 2004, 35(2): 216-218.
- [5] Wang X J, Cao L, Sun H, et al. Fingerprints of artificial standardized planted of *Saposhnikovia divaricate* for medicine [J]. *World Sci-Tech Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术-中药现代化), 2004, 6(3): 33-36.

(上接第 747 页)

参、黄芪、淫羊藿、山楂等 17 味中药组成, 方中枸杞子味甘性平质润, 补而不峻且滋补肝肾明目补血养精之效; 黄芪、刺五加补气健脾; 黄精补肝肾健脾; 熟地养血滋阴以填真阴; 淫羊藿补肾壮阳; 山楂消食化积使补而不滞。全方具有养心安神、补肾益气、健脾和胃、滋阴生津、清心除烦之功效。近现代研究表明, 刺五加能够调节大脑单胺氧化酶水平, 改善中枢神经系统的功能, 与党参起到镇静、催眠、抗紧张、抗焦虑、抗抑郁的作用; 茯苓、枸杞子、黄芪镇静、安神, 增强机体免疫力。本观察提示, 甜梦口服液通过综合

调理神经、内分泌、免疫系统功能^[4], 起到改善 CABG 术后患者焦虑、抑郁的作用, 并对改善心血管功能起辅助作用。

References:

- [1] Pan X, Fang J W. Influence of the preoperative nursing care on the anxiety of the patient [J]. *J Nursing* (护理学杂志), 2004, 19(8): 13-15.
- [2] Zhang M Y. *Handbook of Psychiatric Rating Scale* (精神科评定量表手册) [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Publishing House, 1993.
- [3] Blumenthal J A, Lett H S, Babyak M A, et al. Depression as a risk factor for mortality after coronary artery bypass surgery [J]. *Lancet*, 2003, 362(9384): 604-609.
- [4] Bai B X, Zhang L Z. Clinical observation of neurasthenia treated by Tianmeng Oral Liquid [J]. *Mord J Integr Tradit Chin West Med* (现代中西医结合杂志), 2003, 12(6): 589.