

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.
- [2] 柯珉珉, 张宪德, 吴练中, 等. 岩黄连有效成分的研究 [J]. 植物学报, 1982, 24(3): 289.
- [3] 黄小平, 张毅, 钟国跃. 不同产地和生长年限黄连的总生物碱含量测定 [J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(1): 42-43.
- [4] 李慧梁. 岩黄连活性成分系统研究及藜芦毒性成分研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2006: 110-114.

不同产地龙葵药材中澳洲茄碱量的分析研究

袁海建^{1,2}, 贾晓斌^{1*}, 陈彦^{1*}, 刘中秋³, 邵振中¹

(1. 江苏省中医药研究院 江苏省现代中药制剂工程技术研究中心, 江苏 南京 210028; 2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 3. 南方医科大学药学院, 广东 广州 510515)

摘要:目的 测定龙葵中澳洲茄碱的量以评价不同产地龙葵药材质量。方法 采用Agilent Zorbax SB C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-1%磷酸溶液为流动相梯度洗脱, 体积流量1.0 mL/min, 柱温30 ℃, 检测波长205 nm。结果 6个不同地区龙葵茎叶中澳洲茄碱的平均量在0.544 5~1.504 9 mg/g; 果实中澳洲茄碱的平均量在0.855 5~3.440 8 mg/g。连云港灌南地区龙葵茎叶和果实中澳洲茄碱的量最高, 分别为1.504 9、3.440 8 mg/g; 南京栖霞地区茎叶中量最低, 为0.544 5 mg/g, 南京江宁地区果实中量最低, 为0.855 5 mg/g。结论 同一时期、不同产地龙葵药材茎叶和果实中澳洲茄碱量差异较大。

关键词:龙葵; 澳洲茄碱; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)05-0772-03

龙葵 *Solanum nigrum* L. 是茄科植物龙葵的干燥地上部分, 民间常用于抗炎、抗病毒。近来研究表明, 龙葵具有很好的抗肿瘤活性, 其中的药理活性物质是甾体生物碱类成分^[1], 主要包括澳洲茄碱(solasonine)、澳洲茄边碱(solamargine)等, 苷元为澳洲茄胺。研究表明澳洲茄碱在体外抗肿瘤实验中表现出很好的抗肿瘤活性^[2]。

目前文献报道除了梁生旺等^[3]用薄层扫描法对龙葵中澳洲茄胺做定量分析外, 尚未见使用反相高效液相色谱法对龙葵中甾体生物碱类成分进行定量分析的研究报道。本研究建立了龙葵药材中澳洲茄碱的反相高效液相色谱的分析方法, 测定了不同产地龙葵药材中澳洲茄碱的量, 以期为龙葵药材的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器: Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国Agilent公司)包括柱温箱、在线脱气机、四元泵、二极管阵列检测器及Chem Station 色谱工作站; Buchi 旋转蒸发器。

1.2 试药: 澳洲茄碱对照品(郑州牧业工业高等专科学校化学教研室提供, 经高分辨质谱鉴定并用HPLC

法检测质量分数>98%); 龙葵药材分别采自南京江宁、南京栖霞、泰州泰兴、连云港灌南、徐州新沂、镇江丹徒(采收时间在2007年10月16~20日), 经南京中医药大学吴德康教授鉴定为茄科茄属龙葵 *Solanum nigrum* L. 干燥地上部分, 乙腈、磷酸(TEDIA公司, 色谱纯); 纯净水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Agilent Zorbax SB C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-1%磷酸溶液(B), 梯度洗脱条件为: 0~5 min, A: 22%, B: 78%; 5~20 min, A: 22%~25%, B: 78%~75%; 20~25 min, A: 25%, B: 75%; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 检测波长: 205 nm。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取澳洲茄碱对照品10.75 mg, 置10 mL量瓶中, 用10%醋酸溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成1.075 mg/mL对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备: 取连云港灌南产龙葵药材粉末1.0 g(40目), 精密称定, 加入5%醋酸-甲醇溶液50 mL, 称定质量, 超声提取30 min, 再称定质量, 用提取液补足质量, 摇匀, 滤过, 滤液置50 mL量瓶中, 用提取液定容至刻度。从中精密量取25 mL溶液减

收稿日期: 2007-09-10

基金项目: 江苏省中医药领军人才基金项目(2006); 江苏省中医药局项目(H05021)

作者简介: 袁海建(1981—), 男, 在读硕士生, 研究方向为中药新剂型与新技术。 E-mail: yuanjian8101@163.com

* 通讯作者 贾晓斌 陈彦 Tel/Fax: (025)85637809

压蒸干,残渣用10%醋酸溶液溶解,定容到5 mL量瓶中,经0.45 μL微孔滤膜滤过,即得。

2.4 系统适应性试验:精密吸收供试品溶液20 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱图(图1)。以澳洲茄碱计算,理论塔板数不小于5 000。

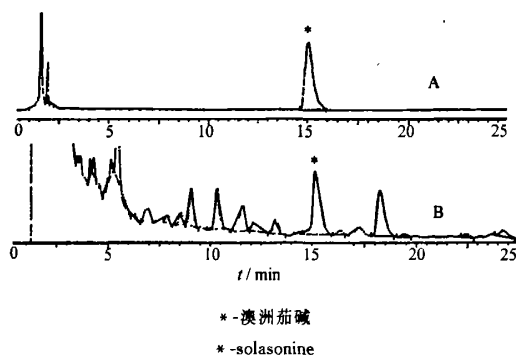


图1 对照品(A)和龙葵药材(B)HPLC图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and Herba Solani Nigri (B)

2.5 标准曲线的制备:精密量取对照品溶液0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 mL置5 mL量瓶中,用10%醋酸溶液稀释至刻度,摇匀制成0.043 0、0.086 0、0.172 0、0.258 0、0.344 0、0.430 0、0.516 0 mg/mL的对照品溶液;分别吸取上述对照品溶液20 μL注入高效液相色谱仪,记录峰面积;以质量分数为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得方程为 $Y=282\,762\,X-41.863$, $r=0.999\,7$,表明澳洲茄碱在0.86~10.32 μg线性良好。

2.6 精密度试验:取0.258 0 mg/mL的对照品溶液,连续进样6次,每次20 μL,记录峰面积,计算得其RSD为0.02%,表明该方法精密度良好。

2.7 重现性试验:取连云港灌南产龙葵药材粉末(40目)6份,按供试品操作方法平行制备,测定,计算澳洲茄碱质量分数的RSD为1.17%,结果表明该方法重现性良好。

2.8 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在0、1、2、4、8、12、24 h进样测定,记录峰面积,计算得其RSD为1.23%,表明样品在室温下24 h内稳定性良好。

2.9 回收率试验:以连云港灌南产龙葵药材茎叶粉末(40目)为研究对象,精密称取药材粉末6份,每份0.5 g,置于50 mL三角烧瓶中,分别加澳洲茄碱对照品0.568 8、0.711 0、0.853 2 mg,并按照上述供试品溶液制备,测定。平均回收率为101.04%,RSD为1.72%。

2.10 不同产地龙葵药材中澳洲茄碱量的测定:精

密称取6个不同产地龙葵药材茎叶和果实粉末1.0 g(40目),按照“供试品制备”项下制备,以20 μL进样,测定色谱峰峰面积,根据标准曲线计算质量分数,结果见表1。

表1 不同产地龙葵茎叶和果实中澳洲茄碱的测定(n=3)

Table 1 Determination of solasonine in herb and fruits of *S. nigrum* from different habitats (n=3)

产地	茎叶		果实	
	澳洲茄碱/ (mg·g ⁻¹)	RSD/%	澳洲茄碱/ (mg·g ⁻¹)	RSD/%
南京江宁	0.685 7	1.12	0.855 5	1.07
南京栖霞	0.544 5	1.39	1.606 6	1.02
连云港灌南	1.504 9	0.91	3.440 8	1.11
泰州泰兴	0.835 8	1.74	0.898 6	1.01
徐州新沂	1.116 6	1.01	2.412 3	1.23
镇江丹徒	0.993 5	1.45	1.369 8	1.69

3 讨论

本实验考察了不同提取溶剂——甲醇、5%醋酸-甲醇、95%乙醇、5%醋酸-95%乙醇、5%醋酸-水溶液(均按体积比配制)对澳洲茄碱提取效率的影响,实验结果证明以5%醋酸-甲醇作为提取溶剂,提取效率较高;比较了超声和70℃回流两种提取方法,结果表明超声提取效果较好;进而比较了超声提取20、30、40 min的提取效果,结果表明随着超声时间的延长,提取效率提高,但是到达一定时间后,其提取效率到了到一个平台期,故选择超声提取30 min;比较了25、50、75倍提取溶剂对提取效率的影响,结果显示用50倍量提取液的提取效果较好;同时考察了1%、3%、5%的醋酸对提取效率的影响,结果表明使用5%醋酸的提取效率较好。

中国龙葵目前主要有1个种和2个变种^[4,5],全国各地均有分布。为了更好地利用龙葵药材资源,并保证龙葵药材的质量,因此有必要建立龙葵药材的质量分析标准。本实验是用同一时期采收的江苏省北部、中部、南部几个地方龙葵药材,对其中的澳洲茄碱进行了测定。结果表明南北差异明显,以江苏连云港地区产龙葵药材中澳洲茄碱的量最高,江苏南京地区产龙葵中澳洲茄碱的量最低。江苏北部两地茎叶中澳洲茄碱的平均量较南部三地高76.83%,江苏北部两地果实中澳洲茄碱的平均量较南部三地高129.11%。

为了便于比较龙葵果实和茎叶中甾体生物碱存在的差异,实验中将同一产地龙葵果实和茎叶中澳洲茄碱的量进行了分别测定。试验结果表明:同一产地的龙葵果实比龙葵茎叶中澳洲茄碱的平均量高出7.55%~195.13%,两者差异较大。这也为实践中合

理使用龙葵药材,控制龙葵质量提供了实验依据。

本研究未能对不同采收期龙葵药材茎叶和果实中澳洲茄碱的量进行分析,因此有必要对不同采收期龙葵药材中甾体生物碱的量做进一步研究。

参考文献:

- [1] 王蔚,陆道培.龙葵总提取物对多发性骨髓瘤U266细胞株的作用[J].北京大学学报:医学版,2005,37(3):240-244.
- [2] 罗文娟,王光辉,周新兰.螺甾皂苷类化合物的体外抗人肝癌细胞增殖作用[J].现代肿瘤医学,2007,15(3):307-308.
- [3] 梁生旺,王浴铭,张广强.薄层扫描法测定龙葵中澳洲茄碱的含量[J].中国药理学杂志,1997,32(8):494-495.
- [4] 张海洋,姜祥君,董锡文,等.中国产龙葵数值分类的研究[J].植物研究,1999,19(2):127-131.
- [5] 张海洋,徐秀芳,董锡文.三种龙葵表皮毛类型及发育过程观察研究[J].西北植物学报,2000,20(2):313-316.

HPLC 法同时测定穿龙薯蓣中薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷

刘中博¹,王铁杰²,卢忠强³,陈晓辉¹,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,广东深圳 518029;

3. 国药控股深圳中药有限公司,广东深圳 518029)

穿龙薯蓣为薯蓣科薯蓣属植物穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Mak. 的根茎,收载于《中国药典》2005年版一部。穿龙薯蓣有活血舒筋、消食利水、祛痰截疟的功效,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]。从穿龙薯蓣根茎中提取的甾体总皂苷制成的中药制剂地奥心血康胶囊广泛被应用于治疗冠心病、心绞痛等心脑血管疾病。

穿龙薯蓣的有效成分主要为甾体皂苷类,其中薯蓣皂苷(dioscin)和原薯蓣皂苷(protodioscin)为其主要成分。薯蓣皂苷具有增强心脏收缩力、减慢心率、抗动脉硬化、改善微循环的作用。还有其他药理作用,如溶血作用、祛痰作用、抗血小板聚集作用、降血脂作用^[2]等。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,而卵巢癌细胞株不敏感,半数生长抑制浓度(GI₅₀)为 1~7 μmol/L。经 COMPARE 程度分析发现,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活性与原薯蓣皂苷相似,表明该化合物可能有新的抗癌机制。这两种皂苷含糖量高、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,定量测定报道甚少。本实验首次建立同时测定穿龙薯蓣中薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的

HPLC 分析方法,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,美国 Alltech 2000 蒸发散射光检测器和 Empower 工作站。

薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷对照品自制,经 IR、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 确定结构^[5,6],质量分数均大于 99%。乙腈为色谱纯,水为重蒸水(自制),乙醇为分析纯。

药材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购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℃ 干燥后,粉碎过 24 目筛,备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验:色谱柱为 Xterra™ ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以乙腈(A)-水(B)为流动相,梯度洗脱程序:0~6 min,5% A 线性变为 26% A;6~35 min,26% A 线性变为 30% A;35~36 min,30% A 线性变为 50% A;36~60 min,50% A 线性变为 60% A。体积流量 1.0 mL/min,柱温 35℃,蒸发散射光检测器漂移管温度为

收稿日期:2007-09-10

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,辽宁省人,在读博士研究生,从事药物分析研究。

Tel: (024)24515539 E-mail: liuzhongbo2008@sina.com

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

不同产地龙葵药材中澳洲茄碱量的分析研究

作者：[袁海建](#), [贾晓斌](#), [陈彦](#), [刘中秋](#), [邵振中](#)
作者单位：[袁海建\(江苏省中医药研究院江苏省现代中药制剂工程技术研究中心, 江苏南京210028; 江苏大学药学院, 江苏, 镇江212013\)](#), [贾晓斌, 陈彦, 刘中秋, 邵振中\(江苏省中医药研究院江苏省现代中药制剂工程技术研究中心, 江苏南京, 210028\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (5)
被引用次数: 5次

参考文献(5条)

1. [王蔚; 陆道培](#) [龙葵总提取物对多发性骨髓瘤U266细胞株的作用](#) [期刊论文] - [北京大学学报\(医学版\)](#) 2005 (03)
2. [罗文娟; 王光辉; 周新兰](#) [螺甾皂苷类化合物的体外抗人肝癌细胞增殖作用](#) [期刊论文] - [现代肿瘤医学](#) 2007 (03)
3. [梁生旺; 王浴铭; 张广强](#) [薄层扫描法测定龙葵中澳洲茄碱的含量](#) 1997 (08)
4. [张海洋; 姜祥君; 董锡文](#) [中国产龙葵数值分类的研究](#) 1999 (02)
5. [张海洋; 徐秀芳; 董锡文](#) [三种龙葵表皮毛类型及发育过程观察研究](#) [期刊论文] - [西北植物学报](#) 2000 (02)

本文读者也读过(10条)

1. [于加平. 张艳娣. Yu Jia-Ping. ZHANG Yan-Di](#) [原子光谱法测定野生龙葵果中微量元素的含量](#) [期刊论文] - [光谱实验室](#) 2010, 27 (4)
2. [黄思梅. 杨和生. 刘惠娜. 廖富林. 许良政](#) [苯乙酸诱导野生药食两用植物少花龙葵插条生根的研究](#) [期刊论文] - [北方园艺](#) 2010 (7)
3. [靳智. 周晓英. 杨涛. 葛亮. JIN Zhi. ZHOU Xiao-Ying. YANG Tao. GE Liang](#) [原子吸收光谱法测定龙葵果中微量元素的含量](#) [期刊论文] - [光谱实验室](#) 2010, 27 (3)
4. [王萍萍. 唐咏. 孙东](#) [Cu²⁺胁迫对龙葵生理生化特性的影响](#) [期刊论文] - [安徽农业科学](#) 2007, 35 (11)
5. [李立英. 孙丽光. 刘良. Li Liying. Sun Liguang. Liu Liang](#) [龙葵制剂中澳洲茄胺盐酸盐含量测定](#) [期刊论文] - [东北林业大学学报](#) 2009, 37 (6)
6. [李公斌. LI Gong-bin](#) [硫酸酯化黑木耳多糖的抑菌功能](#) [期刊论文] - [食品研究与开发](#) 2011, 32 (2)
7. [李明慧. 丁岗. 孟兆青. 蔡静. 刘景晶. LI Ming-Hui. DING Gang. MENG Zhao-Qing. CAI Jing. LIU Jing-Jing](#) [龙葵药材中澳洲茄碱、澳洲茄边碱的含量测定](#) [期刊论文] - [中国天然药物](#) 2007, 5 (5)
8. [蒋新宇. 杨辉. 赵宇. JIANG Xin-yu. YANG Hui. ZHAO Yu](#) [龙葵中甾体类生物总碱的含量测定](#) [期刊论文] - [食品科学](#) 2006, 27 (8)
9. [季宇彬. 高世勇. 汲晨锋. 邹翔. JI Yu-bin. GAO Shi-yong. JI Chen-feng. ZOU Xiang](#) [龙葵碱对HepG2人肝癌细胞NAT酶动力学常数的影响](#) [期刊论文] - [中国药理学通报](#) 2008, 24 (9)
10. [孙瑞莲. 周启星. 王新. SUN Rui-lian. ZHOU Qi-xing. WANG Xin](#) [镉超积累植物龙葵叶片中镉的积累与有机酸含量的关系](#) [期刊论文] - [环境科学](#) 2006, 27 (4)

引证文献(5条)

1. [冯淑荣. 尹荣. 赵吉丽. 王雪松](#) [奥唑嗪盐酸口服液的药理学实验研究](#) [期刊论文] - [北华大学学报 \(自然科学版\)](#) 2009 (1)
2. [高淑红. 苏珍枝. 高宝益. 刘林凤. 杨东方. 李慧博](#) [龙葵药材薄层鉴别研究](#) [期刊论文] - [中国医药导报](#) 2013 (12)
3. [刘林凤. 高宝益. 高淑红](#) [高效液相色谱法测定龙葵中澳洲茄碱与澳洲茄边碱含量的研究](#) [期刊论文] - [世界中西医结合杂志](#) 2013 (2)

4. [单会娇](#), [张建逵](#), [许亮](#), [韩荣春](#), [徐保利](#), [王冰](#) 24个产地龙葵中澳洲茄碱的含量测定[期刊论文]-[中成药](#) 2011(3)
5. [袁海建](#), [程林兵](#), [蔡宝昌](#), [李俊松](#), [陈宜刚](#) RP-HPLC法测定月腺大戟(狼毒)中2种活性成分[期刊论文]-[中成药](#) 2012(7)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200805044.aspx