

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, 王裕铭, 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 仪器与试药

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

115 ℃,载气体积流量为 3.0 L/min。按薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷计算理论塔板数均大于 1 800,与相邻峰之间分离度均大于 1.5,对称因子均在 0.95~1.05。

2.2 对照品溶液制备:精密称取薯蓣皂苷 50.09 mg、原薯蓣皂苷 52.70 mg,置于 50 mL 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液制备:取药材粉末约 0.5 g,精密称定,置具塞 100 mL 锥形瓶中,加入 10 倍量 35% 乙醇,密塞,超声处理 30 min,滤过后的提取液蒸干,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 标准曲线绘制:精密吸取 2.2 项下的对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,在上述色谱条件测定峰面积。以对照品质量的自然对数为横坐标,峰面积的积分值的自然对数为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程:薯蓣皂苷为 $Y = 2.231 \times 10^5 X - 1.428 \times 10^4$, $r = 0.999\ 9$,线性范围为 2.00~16.0 μg,原薯蓣皂苷为 $Y = 2.070 \times 10^5 X - 7.023 \times 10^4$, $r = 0.999\ 9$,线性范围为 2.11~16.9 μg,结果表明线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 5 μL,重复进样 6 次,在上述色谱条件测定峰面积,薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷峰面积的 RSD 分别为 0.3% 和 0.4% ($n = 6$)。

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,在上述色谱条件测定薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷的质量分数, RSD 分别为 2.4% 和 1.6% ($n = 6$)。

2.7 稳定性试验:精密吸取同一供试品试液,在室温下放置,分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 测定薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷的质量分数,日内 RSD = 0.5% ($n = 6$),日间 RSD = 1.1% ($n = 4$),样品溶液在 72 h 内稳定。

2.8 回收率试验:精密称取 9 份已知质量分数的药材粉末 0.5 g,依次加入低、中、高 3 种质量浓度混合对照品溶液,按 2.3 项下操作。在上述色谱条件下测定,得出薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷的平均回收率分别为 95.5%、95.4%, RSD 分别为 1.3%、1.4% ($n = 9$)。

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薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷的量,结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 不同产地穿龙薯蓣中薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的测定 ($n = 3$)

Table 1 Determination of dioscin and protodioscin in *D. nipponica* from different habitats ($n = 3$)

产 地	薯蓣皂苷/ (mg · g ⁻¹)	原薯蓣皂苷/ (mg · g ⁻¹)
辽宁沈阳	22.47	19.45
辽宁铁岭	25.64	27.05
辽宁清原所	28.59	26.51
辽宁 I	23.41	22.04
辽宁 II	22.78	20.85
吉林 I	18.44	13.16
吉林 II	19.31	16.87
黑龙江 I	23.56	21.10
黑龙江 II	20.34	20.78
河南新乡	22.44	20.23
河南信阳	23.43	12.53
山西沁县	22.23	20.99
山西临汾	23.25	23.57
宁夏	17.31	17.30
陕西	18.79	11.24
河北	17.56	17.27
内蒙古 I	19.78	20.31
内蒙古 II	21.46	22.56
中国药品生物制品鉴定所	23.42	21.62

(批号 121378-2200401)

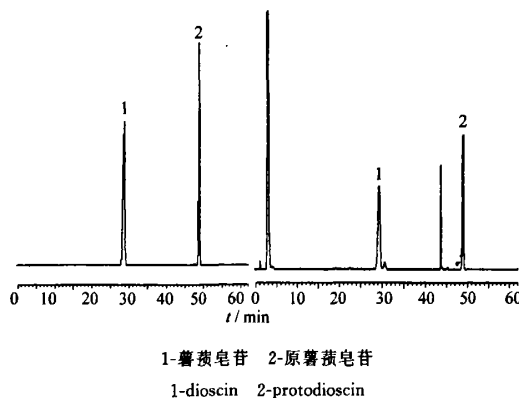


图 1 对照品(A)及样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

3 讨论

3.1 原薯蓣皂苷与薯蓣皂苷在紫外末端吸收,噪音对结果影响很大。本实验采用 ELSD 检测器,配合梯度洗脱,测定样品中的原薯蓣皂苷与薯蓣皂苷的量。结果表明,穿龙薯蓣中的原薯蓣皂苷与薯蓣皂苷能够获得很好的分离,且分离度及重现性均令人满意。提示可用于穿龙薯蓣药材的质量监控。

3.2 从样品的检测结果来看,各产地之间,原薯蓣皂苷的量差异要大于薯蓣皂苷量的差异。

参考文献:

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.

- [2] 侯娟, 何文辉, 王明霞, 等. 薯蓣皂苷的药理作用 [J]. 河北医药, 2004, 26(1): 71.
- [3] Shao Y, Poobrasert O, Kennelly E, et al. Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity [J]. *Planta Med*, 1997, 63(3): 258-262.
- [4] Hu K, 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] 方一苇, 赵家俊, 贺玉珍, 等. 穿龙薯蓣中两种水难溶性甾体皂苷的结构研究 [J]. 药理学报, 1982, 7(5): 388.
- [6] Hu K, Dong A J, Yao X S, et al. Antineoplastic agents 1. Four furostanol glycosides from rhizomes of *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(1): 161-165.

HPLC 法测定青梅茎皮中岩白菜素

陈光英¹, 蔡宝华¹, 吴晓鹏^{1,2}, 莫峥嵘¹, 韩长日¹

(1. 海南省热带药用植物化学重点实验室, 海南师范大学 化学系, 海南海口 571158;

2. 中国热带农业科学院热带作物生物技术国家重点实验室, 海南海口 571101)

青梅属(*Vatica* L.)是龙脑香科植物中最大的亚属, 该属植物在世界上有65种, 我国有2种, 其中海南有1种即青梅*V. mangachampoi* Blanco. 青梅又称为青皮, 主要分布于海南保亭、三亚、东方、白沙、乐东、万宁和琼中等地^[1], 在泰国、马来西亚等地也有分布. 青梅在海南民间长期用作杀菌消毒, 治疗肝炎及提取中药龙脑香. 莫峥嵘等^[2]已从青梅中分离得到大量的岩白菜素. 研究表明, 岩白菜素具有抗人体免疫缺陷病毒(HIV)、护肝^[3]、抗菌消炎、抗氧化、抗肿瘤及止咳祛痰^[4]等生理活性. 本实验建立了HPLC法测定青梅茎皮中岩白菜素的方法, 结果表明该法稳定, 重现性好, 回收率高, 是检测青梅中岩白菜素的有效方法.

1 仪器、试剂与样品

大连依利特公司高效液相色谱仪, UV230紫外检测器, P230P高压恒流泵(双泵), EC2000工作站. 日本SHIMADZU十万分之一天平.

岩白菜素对照品购于芜湖貳尔塔医药科技有限公司, 经面积归一化法测定其质量分数>99%. 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂为分析纯.

样品分别采自海南万宁石梅青皮林保护区、海南霸王岭保护区和海南尖峰岭保护区, 经海南师范大学生物系钟琮忠副教授鉴定为龙脑香科青梅属植物青梅*V. mangachampoi* Blanco. 样本保存在海南师范大学热带药用植物化学重点实验室.

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为Kromasil C₁₈(250 mm×

4.6 mm, 5 μm); 流动相: A: 0.5%冰醋酸水溶液, B: 甲醇, 梯度洗脱: 0 min 80% A, 10 min 65% A, 25 min 64% A, 30 min 100% B, 42 min 80% B; 体积流量: 0.4 mL/min; 检测波长 274 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL. 在此色谱条件下, 样品中的岩白菜素色谱峰与邻近的色谱峰达到基线分离, 保留时间为22.12 min.

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备: 精密称取约0.2 g青梅茎皮粉末于具塞的磨口三角瓶中, 并准确加入50 mL 75%乙醇超声提取30 min. 提取液减压浓缩至干, 精密加入色谱纯甲醇10 mL, 0.45 μm微孔滤膜滤过, 即得.

2.2.2 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的岩白菜素对照品10 mg, 置于25 mL量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制成0.4 mg/mL的储备液. 以此为母液配制质量浓度为0.2 mg/mL溶液; 再以0.2 mg/mL为母液, 配制为0.1 mg/mL的溶液; 依次类推, 配制成质量浓度分别为0.05、0.025、0.012 5 mg/mL的溶液.

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系的考察: 分别精密吸取岩白菜素储备液适量, 配制为0.4、0.2、0.05、0.025、0.012 5 mg/mL的对照品溶液, 分别进样10 μL, 测定峰面积. 以峰面积为纵坐标, 样品量为横坐标, 绘制标准曲线: $Y = 3419.0670X + 40.5946$, $r = 0.9997$ ($n = 5$), 线性范围为: 0.125~4 μg.

收稿日期: 2007-10-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20762004); 海南1省自然科学基金资助项目(20604)

作者简介: 陈光英(1971—), 女, 四川人, 副教授, 博士, 主要从事药用植物活性成分研究.

Tel: (0898)65889422 E-mail: chgying123@163.com

HPLC法同时测定穿龙薯蓣中薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷

作者：[刘中博](#)，[王铁杰](#)，[卢忠强](#)，[陈晓辉](#)，[毕开顺](#)
作者单位：[刘中博,陈晓辉,毕开顺\(沈阳药科大学药学院, 辽宁沈阳, 110016\)](#)，[王铁杰\(深圳市药品检验所, 广东深圳, 518029\)](#)，[卢忠强\(国药控股深圳中药有限公司, 广东深圳, 518029\)](#)
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：2次

参考文献(6条)

1. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
2. [侯娟;何文辉;王明霞](#) 薯蓣皂苷的药理作用[期刊论文]-[河北医药](#) 2004(01)
3. [Shao Y;Poobrasert O;Kennelly E](#) Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity 1997(03)
4. [Hu K;Yao X S](#) Protodioscin(NSC-698796):Its spectrum of cytotoxicity against sixty human cancer cell lines in an anticancer drug screen panel[外文期刊] 2002(4)
5. [方一苇;赵家俊;贺玉珍](#) 穿龙薯蓣中两种水难溶性甾体皂苷的结构研究 1982(05)
6. [Hu K;Dong A J;Yao X S](#) Antineoplastic agents II.Four furostanol glycosides from rhizomes of *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca*[外文期刊] 1997(01)

本文读者也读过(10条)

1. [余淑娟. 郭清峰. 张纬. 郑湘娟. 郝晓霞. 罗冬梅. YU Shu-xian. GU Qing-feng. ZHANG Wei. ZHENG Xiang-juan. HA Xiao-xia. LU Dong-mei](#) 反相高效液相色谱法测定胡芦巴中原薯蓣皂苷的含量[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2007, 18(7)
2. [王铁杰. 刘中博. 文琪琨. 陈晓辉. 李军. 毕开顺](#) RP-HPLC法测定黄山药和穿龙薯蓣中薯蓣皂苷的含量[期刊论文]-[中药材](#)2005, 28(12)
3. [孟祥才. 于冬梅. 杨国辉. 孙晖. 王喜军. Meng Xiangcai. Yu Dongmei. Yang Guohui. Sun Hui. Wang Xijun](#) 不同性别及去花对穿龙薯蓣中薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷和总皂苷含量的影响[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#) 2010, 12(2)
4. [朱晓红](#) 高效液相色谱法测定地奥心血康胶囊中薯蓣皂苷的含量[期刊论文]-[中国基层医药](#)2010, 17(14)
5. [秦兰艳. 贾凌云. 孙启时. 黄顺旺. QIN Lan-yan. JIA Ling-yun. SUN Qi-shi. HUANG Shun-wang](#) RP-HPLC法同时测定穿山龙中薯蓣皂苷和纤细皂苷的含量[期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#)2007, 24(10)
6. [孙新建. 李志浩](#) HPLC-DAD法测定鄂西北地区黄姜中薯蓣皂苷的含量[期刊论文]-[郧阳医学院学报](#)2008, 27(3)
7. [刘亚威. 陈晓辉. 刘慧. 果德安. 毕开顺](#) RP-HPLC法检测降糖类中药制剂中违禁添加的磺酰脲类成分[期刊论文]-[西北药学杂志](#)2009, 24(2)
8. [杜虹韦](#) 穿龙薯蓣与盾叶薯蓣研究开发概况[期刊论文]-[中医药学报](#)2010, 38(3)
9. [张伟锋. 刘宝山](#) 薯蓣皂苷的药理作用研究进展[期刊论文]-[世界中西医结合杂志](#)2010, 05(6)
10. [张加. 陈晓辉. 杨晨. 蒋玲燕. 毕开顺. ZHANG Jia. CHEN Xiaohui. YANG Chen. JIANG Lingyan. BI Kaishun](#) 萆澄茄 RP-HPLC指纹图谱研究[期刊论文]-[西北药学杂志](#)2009, 24(4)

引证文献(2条)

1. [周新勇. 宋曙辉. 罗晖. 张丽梅](#) 反相高效液相色谱法测定紫山药中薯蓣皂苷的含量[期刊论文]-[食品工业科技](#) 2011(7)
2. [孟祥才. 于冬梅. 杨国辉. 孙晖. 王喜军](#) 不同性别及去花对穿龙薯蓣中薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷和总皂苷含量的影响

[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#) 2010(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200805045.aspx