

### 3 讨论

石斛的多糖类成分是石斛中具有免疫促进和抗肿瘤作用的活性成分,常以其量的高低来判断某一类石斛类药材的质量好坏。因此本实验以多糖作为测定指标,来研究美花石斛药材的适宜产地和采收时间。

由不同产地的美花石斛药材的多糖量结果看出,贵州所产美花石斛药材的多糖量最高,其次是越南、广西,云南最低。所比较的产地均为美花石斛的主要产地,因此笔者可以推出美花石斛的适宜产地是贵州。这一结果可能与各产地的地理经纬度和海拔高度等影响因素有关,贵州两地的经度和纬度都在105°和25°左右,但云南和广西的经度分别为104°和109°,纬度为23°和21°左右,越南和广西的海拔较贵州和云南的低,而且其余各产地的年均温度比贵州两地的年均温度高3~6℃,这一原因与聚类结果相符,它们都可能对药材的生长和有效成分的积累带来一定的影响。

不同采收期的美花石斛多糖成分量有明显差别,从采收年限上看,因为美花石斛药材现多为仿野生和移栽药材,所以不考虑1年生药材,而4年生药材茎多干枯,不做药用,因此只比较2年生和3年生药材。从结果可以看出,2年生药材的多糖量高于3

年生药材,因此建议美花石斛药材采收应该安排在第2年的生长期结束时比较合适。

不同采收时期美花石斛从采收的不同月份来看,总体上讲多糖量在春季(2~4月)最低,秋冬季(9~12月)量相对较高,所以美花石斛的采收季节可定为9月至次年1月(即秋季和冬末春初),由此可以看出传统上石斛药材的采收时间定于秋冬季是有科学道理的。

由于美花石斛中还含有其他有效成分,因此确定最终的最佳产地和采收时间还要结合其他有效成分的含量和产地的地理气候因素,本实验通过多糖量的差异进行比较初步确定药材的适宜产地和采收时间,为今后继续研究美花石斛药材的有效成分和采收时间提供基础。

#### 参考文献:

- [1] 李满飞,平田正义,徐国钧,等. 粉花石斛化学成分的研究[J]. 药学学报,1991,26(4):307-310.
- [2] 秦海林,张建新,王峥涛,等. 环草石斛的<sup>1</sup>H-NMR 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(12):919-923.
- [3] 李满飞,徐国钧,平田正义,等. 中药石斛类多糖的含量测定[J]. 中草药,1990,21(10):10-12.
- [4] 张光浓,毕志明,王峥涛,等. 石斛属植物化学成分研究进展[J]. 中草药,2003,34(6):附5-8.
- [5] 白音,王文全,包英华,等. 美花石斛茎组织构造及多糖含量比较研究[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(3):196-198.

## 不同产地短瓣金莲花中黄酮苷的测定

周欣<sup>1</sup>,范国荣<sup>2\*</sup>

(1. 南京军区福州总医院 药学科,福建 福州 350025; 2. 第二军医大学 药物分析教研室,上海 200433)

**摘要:**目的 考察不同产地短瓣金莲花药材中3种黄酮苷的量。方法 采用HPLC同时测定短瓣金莲花中槲皮素-3-O-新橙皮糖苷、荜草苷及牡荆苷的量。结果 不同产地短瓣金莲花药材中槲皮素-3-O-新橙皮糖苷和荜草苷的量有较大差异。结论 所建立的分析方法准确可靠,可用于短瓣金莲花药材质量控制。本研究为短瓣金莲花的资源利用及质量控制提供了一定的科学依据。

**关键词:**短瓣金莲花;黄酮苷;HPLC

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1735-03

短瓣金莲花 *Trollius ledebouri* Reichb. 为毛茛科金莲花属植物的干燥花,属野生的多年生草本植物,主要分布于黑龙江及内蒙古东北部等地区<sup>[1,2]</sup>,具有抑菌和抗病毒等功效。现代药理研究表明黄酮

类化合物为金莲花属植物主要有效成分,生药鉴别和药品质量评价也均以黄酮为指标<sup>[3~6]</sup>,金莲花属植物已知成分的定量测定多采用高效液相色谱法、薄层扫描色谱法、分光光度法等方法,目前所报道的

收稿日期:2008-01-04

作者简介:周欣(1977—),女,江西人,硕士研究生,目前研究方向为中药质量控制。

Tel: (0591)83373754 E-mail: zibaihuamao@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 范国荣 Tel: (021)25070388 E-mail: Guofan@yahoo.com.cn

研究仅定量荜草苷或牡荆苷<sup>[7,8]</sup>。本实验首次建立了高效液相色谱同时测定短瓣金莲花中3种指标性成分(槲皮素-3-O-新橙皮糖苷、荜草苷及牡荆苷)的定量测定方法,并考察了不同产地短瓣金莲花药材中3种单体的量,为该药材的质量控制建立切实可行的分析方法。

## 1 材料及仪器

1.1 材料及试剂:短瓣金莲花药材(河北鹿泉、河北承德、石家庄、哈尔滨、沈阳、北京、内蒙古、青海、济南9个产地)购自药材市场或当地药店,经第二军医大学生药教研室秦路平教授鉴定。

乙腈、磷酸、异丙醇、四氢呋喃为色谱纯(Merck公司),甲醇、二甲基亚砜等试剂为分析纯。荜草苷、牡荆苷及槲皮素-3-O-新橙皮糖苷对照品为本实验室自制,质量分数均高于98.5%。

1.2 仪器:LC-10AT泵,SIL-10AD自动进样器,CTO-10AS柱温箱检测器,SPD-10A紫外检测器,N2000色谱工作站。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验:采用反相高效液相色谱C<sub>18</sub>柱(200 mm×4.6 mm,5 μm)为大连伊利特有限公司,流动相为0.5%醋酸水溶液-异丙醇-四氢呋喃-乙腈(450:20:30:30);检测波长为340 nm;柱温为25℃;进样量20 μL,体积流量为0.6 mL/min。理论塔板数按荜草苷峰计算应不低于4 000。

2.2 供试品溶液的制备:称取干燥药材约0.5 g,精密称定,加入60%甲醇10 mL,超声提取30 min,滤过,滤液用60%甲醇定容于25 mL量瓶中,摇匀。用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 线性考察:分别精密称取五氧化二磷减压干燥24 h的荜草苷对照品10.04 mg、槲皮素-3-O-新橙皮糖苷对照品9.98 mg置于10 mL量瓶中,加1.0 mL二甲基亚砜超声溶解,再用60%甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成含荜草苷、槲皮素-3-O-新橙皮糖苷约1.0 mg/mL的溶液,分别精密量取0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL于10 mL量瓶中,用60%甲醇定容至刻度,摇匀,得10~100 μg/mL系列质量浓度溶液。各进样20 μL,记录荜草苷、槲皮素-3-O-新橙皮糖苷峰面积。

精密称取五氧化二磷减压干燥24 h的牡荆苷对照品10.05 mg置于10 mL量瓶中,加1.0 mL二甲基亚砜超声溶解,再用60%甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成含牡荆苷1.0 mg/mL的溶液,分别精密

量取20、40、60、80、100、120 μL于10 mL量瓶中,用30%甲醇定容至刻度,摇匀,得2.0~12.0 μg/mL系列质量浓度溶液。各进样20 μL,记录牡荆苷峰面积。以样品质量浓度(μg/mL)为横坐标,峰面积为纵坐标做标准曲线,结果见表1,3种黄酮苷对照品色谱图见图1。

表1 3种黄酮苷标准曲线测定结果

Table 1 Standard curve of three kinds of flavonoid glycosides

化合物	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL <sup>-1</sup> )
荜草苷	A=33 685 C+288 71	0.999 8	10.04~100.4
槲皮素-3-O-新橙皮糖苷	A=22 568 C+126 09	0.999 8	9.98~99.80
牡荆苷	A=14 702 C+427 3.3	0.999 9	2.01~12.06

2.4 精密度试验:取上述标准曲线制备项下槲皮素-3-O-新橙皮糖苷、荜草苷对照品溶液(约40 μg/mL),牡荆苷对照品溶液(约8 μg/mL),连续重复进样6次。结果荜草苷峰面积的RSD为0.44%,槲皮素-3-O-新橙皮糖苷峰面积的RSD为0.06%,牡荆苷峰面积的RSD为0.20%,表明本法精密度良好。

2.5 重现性试验:将同一产地药材(内蒙古)平行制备供试品溶液6份,按上述色谱条件测定,考察金莲花提取物中荜草苷、牡荆苷及槲皮素-3-O-新橙皮糖苷色谱峰面积的重现性,结果荜草苷的RSD为0.42%,槲皮素-3-O-新橙皮糖苷的RSD为0.20%,牡荆苷的RSD为0.33%,结果表明本测定方法重现性良好。

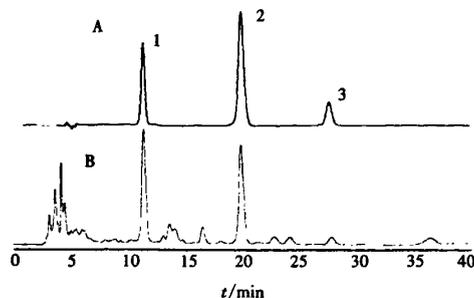
2.6 稳定性试验:取同一产地金莲花药材(内蒙古),制备供试品溶液,间隔一定时间进样(0、2、4、6、8、10、12 h),观察其峰面积的变化,结果荜草苷的RSD为0.46%,槲皮素-3-O-新橙皮糖苷的RSD为0.61%,牡荆苷的RSD为0.62%,表明样品溶液在12 h内稳定。

2.7 回收率试验:采用加样回收法,分别称取已测定的同一产地金莲花药材(内蒙古)2 g,共6份,分别精密加入定量的3种黄酮苷对照品溶液,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定3次,计算回收率。结果荜草苷的平均回收率为99.12%,RSD为0.96%,槲皮素-3-O-新橙皮糖苷的平均回收率为98.80%,RSD为1.60%,牡荆苷的平均回收率为102.66%,RSD2.62%。试验结果表明,各黄酮苷的回收率均符合要求。

2.8 检测限试验:取3种黄酮苷贮备液,用60%甲醇依次稀释制成不同质量浓度的样品液,取20 μL

注入液相色谱仪测定最小检测量。以信噪比大于3估算3种黄酮苷的最小检测量约为0.05 μg/mL。

2.9 样品测定:取不同产地(河北鹿泉、河北承德、石家庄、哈尔滨、沈阳、北京、内蒙古、青海、济南)短瓣金莲花药材制备供试品溶液,计算供试品中3种黄酮苷量,色谱图见图1。结果见表2。



峰1,2,3分别为槲皮素-3-O-新橙皮糖苷、荭草苷及牡荆苷  
peaks 1,2, and 3 respect to quercetin-3-O-neohesperidoside,  
orientin, and vitexin

图1 3种黄酮苷对照品(A)及短瓣金莲花药材(B)  
HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of three flavonoid glycosides  
(A) and sample of *T. ledebouri* (B)

表2 不同产地短瓣金莲花3种黄酮苷量比较(n=3)  
Table 2 Comparison of three flavonoid glycosides  
in *T. ledebouri* from different habitats(n=3)

产地	槲皮素-3-O-新橙皮糖苷/%	荭草苷/%	牡荆苷/%
河北鹿泉	0.373	1.246	0.290
沈阳	1.144	0.428	0.115
河北承德	0.975	0.661	0.150
河北石家庄	0.499	1.008	0.209
北京	0.587	1.086	0.231
内蒙古	0.405	1.072	0.199
青海	0.444	1.137	0.241
哈尔滨	1.278	0.298	0.099
济南	0.339	0.933	0.238

### 3 讨论

本实验首次建立了高效液相色谱法同时测定短

瓣金莲花药材中槲皮素-3-O-新橙皮糖苷、荭草苷及牡荆苷等3种黄酮苷的定量方法。在预实验中,曾尝试不同比例甲醇-醋酸水溶液、乙腈-醋酸水溶液流动相系统,但其分离效果均欠佳。最后确定0.5%醋酸水溶液-异丙醇-四氢呋喃-乙腈(450:20:30:30)体系为流动相可较好分离各黄酮苷,且重现性良好,结果令人满意。研究中对3种对照品进行了紫外扫描,结果发现它们在340 nm波长处有最大或较强吸收,因此本实验中选择340 nm作为检测波长。

本研究首次考察了不同产地短瓣金莲花药材3种黄酮苷的量,结果表明各产地药材中荭草苷及槲皮素-3-O-新橙皮糖苷的量均相对较高,牡荆苷的量较低。产地不同,其3种黄酮苷的量也均有差异,特别是荭草苷及槲皮素-3-O-新橙皮糖苷因产地不同量差异很大。除济南产药材外,发现各产地药材中荭草苷及槲皮素-3-O-新橙皮糖苷的量虽高低不同,但其两者质量分数之和却基本相同(1.48%~1.67%,济南产为1.27%)。此结果对短瓣金莲花药用资源开发具一定提示作用,在短瓣金莲花总黄酮及其黄酮苷单体的分离纯化及药效研究中应注意因产地不同而导致的差异。

### 参考文献:

- [1] 李良千. 毛茛科金莲花亚科植物的地理分布[J]. 植物分类学报, 1995, 33(6): 540.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [3] 冉先德. 中华药海[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993.
- [4] 王平. 金莲花冲剂治疗上呼吸道感染疗效观察[J]. 中成药, 1996, 18(3): 50.
- [5] 王吕荣. 金莲花颗粒剂治疗急性呼吸道感染60例疗效观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2003, 13(3): 179-180.
- [6] 王平. 金莲花冲剂治疗泌尿系感染疗效观察[J]. 中成药, 1995, 17(8): 51.
- [7] 黄文哲, 梁旭. HPLC测定短瓣金莲花中两种黄酮苷的含量[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(10): 658-659.
- [8] 辛春兰, 潘海峰, 李守拙, 等. 金莲花露中总黄酮和荭草苷的测定[J]. 中草药, 2005, 36(9): 1340-1342.

## 欢迎订阅和投稿中国科技核心期刊《药物流行病学杂志》

《药物流行病学杂志》是药物流行病学这一新兴边缘学科在我国乃至整个亚洲最早公开发行的专业性期刊, 中国药学会主办, 刊号CN 42-1333/R(国内)、ISSN 1005-0698(国际), 双月刊, 大16开, 68页, 邮发代号38-187, 2009年每期定价8元。杂志设有“述评”“论著”“临床用药与药效评价”“药物不良反应与合理用药”“药物利用与药物经济学”“国外进展”“方法资源”“讲座”“综述与论坛”“病例报道 病案分析”等栏目。

网址: www.cnjpe.org; E-mail: tg@cnjpe.org, ywlxbz@periodicals.net.cn; 编辑部地址: 武汉市兰陵路2号; 邮编: 430014; Tel: (027)82778580, 82835077。