

3 讨论

3.1 流动相的选择:为使色谱峰分离效果好,并在较短的时间出峰,先后摸索流动相,最终采用本实验选定的流动相进行梯度洗脱,峰形对称,出峰时间适中,且分离效果好。

3.2 不同产地、不同批次药材中样品的量差别较大。首次对黄荆子药材中 VBE-1 的量进行测定,建立了其定量测定方法学。

参考文献:

- [1] 湖南药物志编委会. 湖南药物志 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2004.
- [2] Kawazoe K, Yutani A, Tamemoto K, et al. Phenylanthracene compound from the subterranean part of *Vitex rotundifolia* and their antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64: 588-591.
- [3] Ono M, Nishida Y, Masuoka C, et al. Lignan derivatives and a norditerpene from the seeds of *Vitex negundo* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 2073-2075.
- [4] 周应军. 芳基二氢萘类木脂素衍生物及其用途 [P]. 中国专利. CN200510136656.7, 2007-07-04.

蒺藜果中蒺藜味甾皂苷 B 的 HPLC-ELSD 法测定

解生旭¹, 徐敏海², 韩冬¹, 赵宏峰¹, 司云珊¹, 徐雅娟^{1*}

(1. 吉林省中医药科学院, 吉林 长春 130021; 2. 北京中医药大学, 北京 100102)

摘要:目的 建立反相高效液相色谱-蒸发光检测法(HPLC-ELSD)测定蒺藜味甾皂苷 B 的方法。方法 色谱柱 Vp-ODS C₁₈ 柱, 柱温 40℃, 流动相: 乙腈-水(26:74) (28:72) (31:69) (50:50) 梯度, 体积流量 1 mL/min, 温度: 105℃, 气体流量: 3.0 mL/min。结果 该方法的线性范围为 2.0~10.0 μg, r=0.9973, 平均回收率为 96.68%。结论 方法准确, 灵敏度高, 专属性强, 重现性好, 可用于蒺藜药材中该成分的定量测定。

关键词: 蒺藜; 蒺藜味甾皂苷; HPLC 法

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)02-0309-02

蒺藜为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实, 为我国常用传统中药, 味辛、苦, 微温, 有小毒, 归肝经。具平肝解郁, 活血祛风, 明目, 止痒之功效^[1]。蒺藜已被广泛应用于临床制剂中, 笔者用蒺藜药材开发出蒺藜果总皂苷制剂, 蒺藜果及其制剂尚无质量控制的对照品。为控制药材及其总皂苷制剂质量, 笔者从蒺藜药材中分离提纯化合物蒺藜味甾皂苷 B, 并作为对照品进行了纯化及标定, 建立了蒺藜果测定方法。

1 试验仪器与药品

1.1 仪器: 岛津 2010 自动高效液相色谱仪, 2000ES 蒸发光散射检测器, N2000 工作站。

1.2 试剂与样品: 蒺藜味甾皂苷 B 实验室自制, 由 ES-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR、HMBC、HMQC 光谱分析确定结构式为 26-O'-D-吡喃葡萄糖基-(25R)-5-味甾烷-20(22)-烯-2,3,26-三醇-3-O'-D-吡喃半乳糖基(1,2)-D-吡喃葡萄糖基(1,2)-D-吡喃半乳糖苷, 质量分数 98.80% 以上; 甲醇为色谱

纯, 水为纯净水。蒺藜果采自吉林省洮南市、安徽省亳州市、山东省淄博市、河北省安国市等地, 经长春中医药大学邓明鲁教授鉴定为蒺藜药材为蒺藜科植物蒺藜 *T. terrestris* L. 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Vp-ODS 色谱柱 (250 mm × 4.5 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱, 0~15 min(A:26%~28%), 体积流量 1 mL/min; 15~25 min(A:28%~31%), 体积流量 1 mL/min; 25~30 min(A:31%~50%), 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL; 检测器: 2000ES 型蒸发光散射检测器; 柱温: 40℃; 检测器温度: 100℃; 气体流量 2.8 mL/min。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液制备: 精密吸取蒺藜味甾皂苷 B 对照品 5.6 mg, 置 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解至刻度。

2.3 供试品溶液制备: 取蒺藜果 6 g, 精密称定, 加 70% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并提取液, 回收乙醇至无醇味, 经过大孔树脂柱(D21), 水洗至

* 收稿日期: 2008-06-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371739)

作者简介: 解生旭(1975—), 男, 长春市人, 学士学位, 1997年毕业于长春中医药大学中药专业, 现任职于吉林省中医药科学院重点实验室, 主要从事中药化学的基础研究和新药研发。 Tel: (0431) 86816848 E-mail: jshx222@126.com

* 通讯作者 徐雅娟 Tel: (0431) 86816848 Fax: (0431) 85910067 E-mail: xyj6492@shhu.com

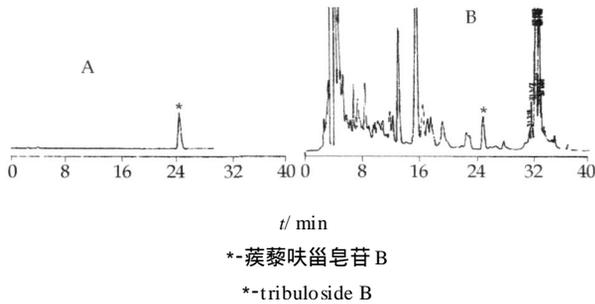


图 1 蒺藜呋甙皂苷 B 对照品 (A) 和蒺藜果 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of tribuloside B reference substance (A) and *T. terrestris* fruit (B)

无色,再用 70% 乙醇洗至无色,回收乙醇,减压干燥,加 50 mL 水溶解,正丁醇等体积萃取 4 次,合并萃取液,蒸干,加甲醇溶解至 2 mL 量瓶中并稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.4 标准曲线的制备:分别精密称取蒺藜呋甙皂苷 B 对照品 1.00 mg 置 1 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,作为对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10 μL ,进样,依法测定。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,进行线性回归,其回归方程为 $\lg A = 5.189\ 000\ 69 + 1.528\ 113\ 30 \lg M$, $r = 0.997\ 3$,表明蒺藜呋甙皂苷 B 在 2.0 ~ 10.0 μg 与色谱峰的峰面积积分值呈良好的线性关系,由于其不过原点,因此采用外标两点法测定。

2.5 精密度试验:按上述色谱条件,精密吸取供试品溶液 10 μL ,连续进样 5 次分别测定蒺藜呋甙皂苷 B 的峰面积,RSD 为 1.67% ($n = 5$)。

2.6 重现性试验:精密称取蒺藜果 5 份,分别按供试品溶液制备方法制备,按上述色谱条件测定峰面积并计算蒺藜呋甙皂苷 B 的质量分数,结果表明 RSD 为 0.78%。

2.7 稳定性试验:按上述色谱条件,精密吸取供试品溶液 10 μL ,每隔 2 h 测定一次,结果 RSD

为 0.53%,表明供试品溶液放置 8 h 测定蒺藜呋甙皂苷 B 的质量分数稳定不变。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。精密称取含蒺藜呋甙皂苷 B 1.22% 蒺藜 0.1 g 置 5 mL 量瓶中,加入一定量的蒺藜呋甙皂苷 B 对照品,再按定量测定项下方法测定其中的蒺藜皂苷的量,并计算回收率,结果平均回收率为 96.68%,RSD 为 1.22%。

2.9 样品定量测定:取不同产地蒺藜果药材,制备供试品溶液,测定其蒺藜呋甙皂苷 B 的量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n = 4$)

Table 1 Determination of samples ($n = 4$)

药材产地	采集时间	蒺藜呋甙皂苷质量分数/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
吉林洮南市	2007-04	0.25
安徽省亳州市	2007-08	0.21
山东省淄博市	2007-08	0.20
河北省安国市	2007-08	0.20

3 讨论

从蒺藜果中分离得到并鉴定了蒺藜呋甙皂苷 B 结构,纯化蒺藜呋甙皂苷 B 质量分数达到 98% 以上。考察了蒺藜果中蒺藜呋甙皂苷 B 的定量测定方法,选用甲醇回流提取法、索式提取法、超声提取法^[2]提取样品,证明甲醇回流提取并采用大孔吸附树脂,醇洗脱的方法,所含杂质少,蒺藜呋甙皂苷 B 的量高。蒺藜呋甙皂苷 B 无紫外吸收,末端吸收亦不明显,因此采用蒸发光散射检测器,建立了 RP-HPLC 测定蒺藜呋甙皂苷 B 量的方法。本方法测定蒺藜呋甙皂苷,有效成分峰与其相邻峰分离效果好,而其他成分不互相干扰。本方法简便,准确,重现性好,可用于该药材中蒺藜呋甙皂苷 B 的定量测定。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2000.
- [2] 李树珍,刘泓. 蒺藜不同提取工艺的研究[J]. 中草药, 1994, 25(9): 462-463.

重 要 启 事

《中草药》杂志自进入“中国期刊方阵”双奖期刊及荣获第二届国家期刊奖和第三届国家期刊奖提名奖以后,承蒙广大读者和作者的厚爱,稿源大增,为了缩短出版周期,增加报道信息量,提高印刷质量,本刊自 2009 年第 1 期开始由原 160 页扩版至 168 页,由现 70 g 双胶印刷改为 80 g 铜板印刷。鉴于 2009 年 1 期开始页码增加,印刷纸张成本增加,从 2009 年第 1 期开始《中草药》杂志每册定价由 19.80 元调至 25.00 元。

《中草药》杂志编辑部