

的检测器。它克服了示差检测器 (RID) 灵敏度低的问题,且相对质谱 (MS) 检测器来说运行成本更低,是中药分离分析、质量控制的重要方法之一。

由实验结果发现白英中 3 种苷元的量由大到小依次为薯蓣皂苷元、蜀羊泉次碱、氢化勒帕茄次碱。不同产地的白英药材中 3 种苷元量的差异较大。其中安徽亳州和福建三明的白英中 3 种苷元量均较高,但内蒙古的白英中 3 种苷元量均相对较低。这可能与气候差异有关,南部地区年均温度较高生长期长而使有效成分量增加。

参考文献:

[1] 张民庆. 抗肿瘤中药的临床应用 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1998.
 [2] 韩重, 黄霁, 何珉, 等. 白英抗肿瘤成分提取工艺的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1500-1502.
 [3] Helmut R, Andrea P. (23R)-23-Hydroxysoladulcidine and related compounds from *Solanum panduraeforme* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(6): 1607-1609.

[4] Richard F K, Dale C B, William G Spirosolane-containing *Solanum* species and induction of congenital craniofacial malformations [J]. *Toxicol*, 1990, 28(8): 873-884.
 [5] 徐顺, 王林江, 李瑞玲, 等. 白英全草中挥发油化学成分的分析 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(8): 1390-1391.
 [6] 孙立新, 李凤荣, 孟楠, 等. HPLC 法测定中药白英中 16-妊娠双烯酮的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(4): 294-296.
 [7] 孙立新, 孟楠, 何珉, 等. HPLC 法测定中药白英中薯蓣皂苷元的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(1): 29-31.
 [8] 甄会贤, 李平, 张虹, 等. 白英中总黄酮的含量测定 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(10): 2231-2233.
 [9] 甄会贤, 齐焯, 陈扬, 等. 白英中总皂苷的含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1402-1403.
 [10] 方幼兰. 芦笋皂苷的提取纯化及其糖基组成 [J]. 生物工程学报, 2005, 21(3): 446-450.
 [11] 李宇彬, 岳磊, 汲晨锋. RP-HPLC-ELSD 测定芦笋皂苷中菝葜皂苷元的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006, 32(12): 1236-1238.

RP-HPLC 同时测定不同产地独一味药材中 4 种环烯醚萜苷

樊鹏程^{1,2}, 李茂星^{1,2}, 贾正平^{1,2*}, 张汝学^{1,2}, 邱建国^{1,2}, 张泉龙^{1,2}

(1. 兰州军区兰州总医院 药剂科, 甘肃 兰州 730050; 2. 国家中医药管理局 临床药学重点学科, 甘肃 兰州 730050)

摘要:目的 建立 RP-HPLC 同时测定不同产地独一味药材中 4 种环烯醚萜苷单体量的方法。方法 采用 Symmetry C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 0~11 min 乙腈-水 (11:89), 11~35 min 乙腈-水 (11:89~15:85)。体积流量: 1.0 mL/min, 检测波长: 235 nm。结果 山梔苷甲酯在 5.0~100 μg/mL 线性关系良好, 加样回收率为 103.1%, RSD 为 2.0%。螃蟹甲苷 (phloyoside) 在 1.0~50 μg/mL 线性关系良好, 加样回收率为 97.2%, RSD 为 1.3%。番木鳖苷甲酯在 1.0~50 μg/mL 线性关系良好, 加样回收率为 101.3%, RSD 为 1.5%。8-O-乙酰山梔苷甲酯在 5.0~100 μg/mL 线性关系良好, 加样回收率为 102.8%, RSD 为 1.2%。10 批不同产地独一味药材中山梔苷甲酯量为 0.3%~1.41%, 螃蟹甲苷量为 0.0%~0.45%, 番木鳖苷甲酯量为 0.02%~2.3%, 8-O-乙酰山梔苷甲酯量为 1.05%~2.95%。结论 实验建立的环烯醚萜苷测定方法准确可靠, 适于独一味药材中环烯醚萜苷类量的测定。不同产地独一味药材中环烯醚萜苷量存在较大差异。

关键词: RP-HPLC; 独一味; 环烯醚萜苷

中图分类号: R282.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)03-0483-03

独一味来源于唇形科独一味属植物独一味 *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo 的全草或根及根茎, 主产于甘肃、西藏、青海、云南、四川等省区, 为传统藏药, 藏语称“大巴”、“打巴布”、“尕果拉”等。其根及根茎或全草入药, 药材表面枯黄色或黄褐色, 质坚硬、干枯、气腥臭, 是我国藏、蒙、纳西等民族民间常用药之一, 具有止血、镇痛消肿、活血化瘀、补髓、行气、续筋骨等功效^[1~3]。2005 年版《中国药

典》中该药材仅对其中的木樨草素作定量测定^[4], 未对环烯醚萜苷类成分进行测定。近年来研究越来越集中于其环烯醚萜苷类成分, 并有报道其主要活性成分为环烯醚萜苷类成分^[5,6], 故单纯控制木樨草素的量不能有效控制独一味药材内在质量, 以致影响生产相关产品的质量及药材临床应用的安全有效。有报道应用分光光度法测定独一味药材中总环烯醚萜苷的量^[7], 钱大玮等^[8]用 HPLC 法测定了独

收稿日期: 2009-06-08

基金项目: 兰州军区医药卫生科研基金资助项目 (LXH-200409); 甘肃省科技攻关项目 (2GS054-A43-014-14)

作者简介: 樊鹏程 (1980—), 男, 主管药师, 硕士, 主要从事中药分析研究。E-mail: fpch2001@yeah.net

* 通讯作者 贾正平 Tel: (0931) 8994652 E-mail: jiazp166@sina.com

一味中环烯醚萜苷类成分硬糙苏苷 C (phlorigidoside C) 的量, 本实验建立了梯度 RP-HPLC 同时测定不同产地独一味药材中 4 种环烯醚萜苷单体量的方法, 并对不同产地独一味药材进行定量测定, 比较分析不同产地独一味药材质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪 (600 高效液相色谱泵、996 二极管阵列检测器、600 控制器、Millennium32 色谱工作站) (美国, Waters), AS5150 超声发生器 (上海医用分析仪器厂)。

1.2 试剂: 4 种环烯醚萜苷单体对照品 (本实验室提取并经制备液相色谱纯化, 质量分数 > 98.0 %); 甲醇均为色谱纯; 水为注射用水。独一味药材分别采于甘肃、西藏、云南 3 个省不同产地的 10 批样品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Symmetry C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 0 ~ 11 min 乙腈-水 (11 89), 11 ~ 35 min 乙腈-水 (11 89 ~ 15 85)。体积

流量: 1.0 mL/min, 检测波长: 235 nm, 柱温为室温。

2.2 混合对照品溶液的制备: 精密称取山栀苷甲酯 2.5 mg、螃蟹甲苷 (phloyoside) 1.25 mg、番木鳖苷甲酯 1.25 mg、8-O-乙酰山栀苷甲酯 2.5 mg 置同一 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液制备: 取独一味粉末 (过 60 目筛) 约 0.3 g, 精密称定, 置 25 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 密塞, 称定质量。于 60 °C 水浴温浸提取 1 h, 取出, 放凉, 再称定质量, 用甲醇补足减少的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 专属性试验: 分别取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 按 2.1 项色谱条件试验。结果表明, 供试品溶液的色谱图中均有与 4 种环烯醚萜苷成分保留时间相同的吸收峰且与其他成分分离较好, 不同独一味药材样品在相应位置无干扰峰。表明本方法测定山栀苷甲酯专属性强, 色谱图见图 1。

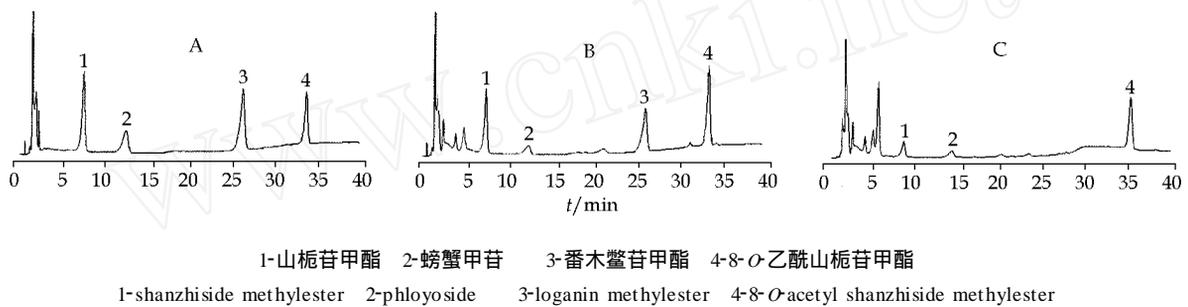


图 1 混合对照品 (A)、独一味地上部分样品 (B)、独一味根样品 (C) 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), samples in aerial parts of *L. rotata* (B), and samples in root parts of *L. rotata* (C)

2.5 标准曲线的制备: 分别精密吸取混合对照品溶液 0.1、1.0、2.0、4.0、5.0、8.0、10.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 各加甲醇至刻度, 摇匀。分别进样 20 μL。以峰面积积分值 (A) 为纵坐标, 浓度 (C) 为横坐标, 进行线性回归, 得到标准曲线方程: 山栀苷甲酯 $A = 14\ 196.1 C + 1\ 006.5$, $r = 0.999\ 7$, 线性范围 5.0 ~ 100 μg/mL; 螃蟹甲苷 $A = 744\ 9.9 C + 8\ 195.3$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围 1.0 ~ 50 μg/mL; 番木鳖苷甲酯 $A = 16\ 296.0 C + 17\ 634.4$, $r = 0.999\ 8$, 线性范围 1.0 ~ 50 μg/mL; 8-O-乙酰山栀苷甲酯 $A = 9\ 533.5 C + 12\ 412.4$, $r = 0.999\ 7$, 线性范围 5.0 ~ 100 μg/mL。

2.6 精密度试验: 准确吸取含山栀苷甲酯 50 μg/mL、螃蟹甲苷 25 μg/mL、番木鳖苷甲酯 25 μg/mL、8-O-乙酰山栀苷甲酯 50 μg/mL 的混合对照品溶液 20 μL, 重复进样 5 次, 测定山栀苷甲酯、螃蟹

甲苷、番木鳖苷甲酯、8-O-乙酰山栀苷甲酯面积, 计算 RSD, 结果山栀苷甲酯、螃蟹甲苷、番木鳖苷甲酯、8-O-乙酰山栀苷甲酯峰面积积分值的 RSD 分别为 1.7%、1.4%、1.2%、1.1%。

2.7 重现性试验: 分别取同一批药材粉末 (过 60 目筛) 6 份, 每份 0.1 g, 精密称定, 制备供试品溶液。各精密吸取 20 μL, 分别进样, 测定山栀苷甲酯峰面积, 计算山栀苷甲酯、螃蟹甲苷、番木鳖苷甲酯、8-O-乙酰山栀苷甲酯质量分数的 RSD 分别为 1.8%、1.5%、1.0%、1.2%。

2.8 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 20 μL, 分别于 0、2、4、6、8、24 h 进样测定, 结果表明, 24 h 内各次测得山栀苷甲酯、螃蟹甲苷、番木鳖苷甲酯、8-O-乙酰山栀苷甲酯峰面积积分值的 RSD 分别为 2.1%、1.7%、1.5%、1.6%。

2.9 回收率试验: 采用加样回收率测定法, 分别称

取同一批号药材粉末(过 60 目筛)0.05 g 共 6 份,精密称定,各加入混合对照品溶液(5 μg/mL)10 mL,按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定 4 种环烯醚萜苷单体量,计算回收率,结果山梔苷甲酯为 103.1%,RSD 为 2.0%;螃蟹甲苷回收率为 97.2%,RSD 为 1.3%;番木鳖苷甲酯回收率为 101.3%,RSD 为 1.5%;8-O-乙酰山梔苷甲酯回收率为 102.8%,RSD 为 1.2%。

2.10 样品测定:分别取 10 批样品粉末(过 60 目筛)各 0.3 g,按 2.2 和 2.3 方法制备对照品和供试品溶液,按 2.1 色谱条件进行 4 种环烯醚萜苷单体测定。结果表明,10 批样品中含山梔苷甲酯量为 0.12%~1.41%,螃蟹甲苷量为 0.0%~0.45%,番木鳖苷甲酯量为 0.02%~2.27%,8-O-乙酰山梔苷甲酯量为 1.05%~2.95%,结果见表 1。

表 1 独一味药材不同产地和采集部位的 4 种环烯醚萜苷单体测定结果(n=2)

Table 1 Determination of four iridoid glycoside monomers in *L. rotata* from different habitats and collection parts (n=2)

样品编号	产地	部位	采集时间	山梔苷甲酯/(mg·g ⁻¹)	螃蟹甲苷/(mg·g ⁻¹)	番木鳖苷甲酯/(mg·g ⁻¹)	8-O-乙酰山梔苷甲酯/(mg·g ⁻¹)
1	甘肃玛曲县	地上部分	2003-08	3.4	4.5	0.4	14.4
2	甘肃玛曲县	地上部分	2004-08	8.2	4.1	22.7	29.5
3	甘肃玛曲县	地上部分	2005-08	6.8	2.9	3.5	19.8
4	甘肃玛曲县	地上部分	2007-08	14.1	0.0	3.1	14.9
5	甘肃玛曲县	地上部分	2008-08	5.5	3.8	0.4	15.6
6	西藏	地上部分	2007-08	4.0	0.6	0.9	21.4
7	西藏	地上部分	2008-08	7.7	3.0	1.3	13.8
8	云南德钦县	地上部分	2007-08	3.9	0.2	0.2	23.9
9	甘肃玛曲县	根	2004-08	2.9	3.3	0.4	14.4
10	云南德钦县	根	2007-08	1.2	0.3	0.3	10.5

3 讨论

本实验采集的样品共涉及 3 个省、区(市)的 9 批不同产地(包括部分同一产地不同采集时间的样品),样品涵盖了目前主要的独一味原药材主产地,

具有一定的代表性。测定结果表明,10 批独一味药材山梔苷甲酯的质量分数为 0.12%~1.41%,其中以甘肃玛曲县所采集独一味地上部分(4 号)量最高(1.41%),云南德钦县所采集独一味根部(10 号)量最低(0.12%)。螃蟹甲苷量为 0.0%~0.45%,其中以甘肃玛曲县所采集独一味地上部分(1 号)量最高(0.45%),云南德钦县(8 号)所采集独一味量较低(0.02%),同时同一产地不同年份螃蟹甲苷量差异较大,2007 年甘肃玛曲县所采集独一味地上部分(4 号)中未测到螃蟹甲苷,可能同不同年份独一味的生长环境变化有关。番木鳖苷甲酯量为 0.02%~2.27%,其中以甘肃玛曲县所采集独一味地上部分(2 号)量最高(2.27%),云南德钦县所采集独一味根部(8 号)量最低(0.02%)。8-O-乙酰山梔苷甲酯量为 1.05%~2.95%,其中以甘肃玛曲县所采集独一味地上部分(2 号)量最高(3.0%),云南德钦县所采集独一味根部(10 号)量最低(1.1%)。实验结果显示野生独一味根据其产地不同各环烯醚萜苷单体量差异较大,提示独一味相关生产厂家在原料药购置时有必要对该类进行检测。同时测定同一产地同一时间不同部位独一味中山梔苷甲酯量结果提示,独一味地上部分 2 种主要环烯醚萜苷山梔苷甲酯及 8-O-乙酰山梔苷甲酯量高于根部。该结果提示采收时可只采集地上部分而保留根部以有利于水土保持和独一味资源的再生,并相应地保护当地较为脆弱的资源环境,但样本量较少尚需进一步研究验证,以期对独一味药材的资源保护提供依据。

参考文献:

- [1] 曾阳. 藏药独一味的研究进展[J]. 中草药,2001,32(12):1141-1143.
- [2] 张凤,孙连娜,陈万生. 独一味的化学成分及药理作用[J]. 药学实践杂志,2008,26(3):169-171.
- [3] 黄英,郭凯,杨婷,等. 独一味胶囊对大鼠机械性皮肤损伤的促愈合作用[J]. 华西药学杂志,2008,23(3):288-291.
- [4] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [5] Li M, Jia Z, Hu Z, et al. Experimental study on the hemostatic activity of the Tibetan medicinal herb *Lamiophlomis rotata* [J]. *Phytother Res*, 2008, 22: 759-765.
- [6] 桑育黎,郝延军. 藏药独一味化学成分及测定方法研究进展[J]. 中草药,2006,37(10):附 9-附 10.
- [7] 李茂星,贾正平,沈涛,等. 分光光度法测定藏药独一味及其制剂中总环烯醚萜苷的含量[J]. 中药新药与临床药理,2006,17(1):45-47.
- [8] 钱大玮,段金彪,朱玲英,等. HPLC 测定独一味中 Phlorigidioside C 的含量[J]. 中国药科大学学报,2004,35(6):549-551.