

量也高。

李绍军等^[11]关于丹参种子组分系统分析得出丹参种子粗脂肪量为16.28%,蛋白质总量为14.46%(其中疏水蛋白约占82.97%),可溶性总糖量为5.3%。由此结论可知,丹参种子含油量较高,因此容易引起脂质过氧化,这是丹参种子不耐贮藏的一个重要原因;其次,疏水蛋白和粗脂肪含量高,而亲水的糖量低,因此可以得出采用合适的干燥方法可以将丹参种子含水量降到较低水平,适当降低种子含水量可以减少种子膜脂质过氧化,从而提高丹参种子的耐藏性,这一结论在本实验中也得到了证实。此外,还可以看出丹参种子本身的可溶性糖量并不高,仅仅依靠可溶性糖的作用来维持膜系统显然是不够的。还有研究也表明两性物质在脱水过程中从水相进入脂相的行为有利于种子细胞忍耐水分丧失,是种子耐脱水性的主要因子之一。因此两性物质的研究是今后探索种子耐藏机制的一个重要方向。

由于时间限制,本实验结果只适用于丹参种子短期贮藏,关于丹参种子长期超干贮藏的最适含水量有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵娜,郭治昕,赵雪,等. 丹参的化学成分与药理作用[J]. 国外医药·植物药分册, 2007, 22(4): 155-160.
- [2] 陈磊,陆茵,郑仕中. 丹参药理活性成分的整合效应[J]. 中草药, 2009, 40(3): 476-479.
- [3] 闫豫君,杨广惠,贺浪冲. RP-HPLC法同时测定丹参中丹参酮A和隐丹参酮的含量[J]. 中草药, 2002, 33(4): 363-365.
- [4] 陈瑛. 实用中药种子技术手册[M]. 北京:人民卫生出版社, 1999.
- [5] 程红焱. 种子超干贮藏技术研究的背景和现状[J]. 云南植物研究, 2005, 27(2): 113-124.
- [6] 程红焱. 种子超干贮藏技术应用面临的问题和研究方向[J]. 云南植物研究, 2006, 28(1): 59-68.
- [7] 国际种子检验协会(ISTA),农业部全国农作物种子质量监督检测中心. 国际种子检验规程[J]. 北京:中国农业出版社, 1999.
- [8] 孙爱清,高荣岐,尹燕桦,等. 不同类型种子超干燥技术研究[J]. 种子, 2007, 26(12): 56-60.
- [9] 王珏,吾拉尔古丽,王建华. 黄芩种子超干和回湿方法研究[J]. 中草药, 2007, 38(11): 1713-1716.
- [10] 宋松泉,程红焱,成春林,等. 种子生物学研究指南[M]. 北京:北京农业大学出版社, 2004.
- [11] 李绍军,舒志明,魏良柱,等. 丹参种子脂肪及蛋白质组分分析[J]. 西北植物学报, 2008, 28(9): 1899-1903.

蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷量的研究

张静赟,李炜*,杨飞快,朱清风

(西安天健医药科学研究所,陕西 西安 710075)

摘要:目的 研究蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷的量。方法 以蒺藜新苷为对照,采用紫外分光光度法测定甾体皂苷的量;以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照,采用高效液相法测定总黄酮醇苷的量。结果 不同产地和采收期蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷的量有较大差异,蒺藜全草部位中以叶中量最高,果实量最低。结论 所建立的分析方法准确可行,可用于蒺藜药材质量控制;以期为蒺藜全草的资源利用及质量控制提供一定的科学依据。

关键词:蒺藜全草;甾体皂苷;总黄酮醇苷

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)05-0829-04

蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 为蒺藜科蒺藜属植物,其果实为传统中药,为历版药典收载,具有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒的功效^[1]。蒺藜花、苗、根也有药用记载^[2]。现代研究表明,蒺藜含有皂苷类、黄酮类、生物碱等多种成分,已开发成多种制剂,用于医学和保健领域^[3]。皂苷类成分具有防治心脑血管疾病、增强性功能、抵制迟发型变态反应及抗衰

老等药理活性^[3];黄酮类成分有促进混合培养的视网膜神经细胞存活的作用,并且在心血管系统等方面也有一定活性^[4]。目前对蒺藜的质控方面研究少有报道^[5,6]。笔者参考相关文献资料^[1-7],以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照,采用高效液相色谱法测定总黄酮醇苷的量;并研究用紫外分光光度法,以蒺藜新苷^[8]为对照,测定蒺藜中总甾体皂苷的量。

采用上述方法,对不同产地、不同生长期、不同部位蒺藜中甾体皂苷和总黄酮的量进行考察,为蒺藜的资源利用及质量控制提供了一定的科学依据。

1 仪器与试剂

TU—1810 紫外可见分光光度计(北京普析); SSI 高效液相色谱仪(美国 SSI 公司), HW—2000 色谱工作站(千谱软件有限公司); 赛多利斯 BP211D 电子天平。

蒺藜新苷对照品(自制,采用归一化法计算其质量分数为 99.2%), 槲皮素(批号 0081-9304, 供定量测定用)、山柰酚(批号 110861-200808, 供定量测定用)、异鼠李素(批号 110860-200608, 供定量测定用)均购自中国药品生物制品检定所;其他试剂均为分析纯;蒺藜全草样品(2008 年 5~10 月,共 33 份),经陕西省食品药品监督管理局所严智慧主任药师鉴定;乙腈为色谱纯;水为超纯水。

2 甾体皂苷的测定

2.1 对照品溶液的制备:取蒺藜新苷对照品 15.15 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成 0.606 mg/mL 对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备:取本品粗粉约 1.5 g,精密称定,加石油醚(60~90 °C) 30 mL 回流提取 30 min,滤过,弃去石油醚液,药渣挥去石油醚,加甲醇 50 mL 回流提取 4 h,提取液蒸干,残渣加甲醇于 25 mL 量瓶中溶解并定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 标准曲线的考察:分别精密吸取配制好的对照品溶液 1、2、3、4、5 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加改良对二甲氨基苯甲醛溶液 5 mL,并用甲醇定容至刻度,密塞,摇匀,置(58±2) °C 水浴中加热 2 h,迅速冷却至室温,以相应试剂为空白,按照分光光度法于 515 nm 波长处测定吸光度。以对照品量(X)对吸光度(Y)进行线性回归,回归方程为 $Y = 0.2706X - 0.0188$, $r = 0.9996$,结果表明蒺藜新苷在 0.606~3.03 mg 对照品量与吸光度线性关系良好。

2.4 精密度试验:取同一供试品溶液,重复测定 5 次,结果 RSD 为 0.37%。

2.5 重现性试验:取同一批供试品 5 份,以拟定的方法制备供试品溶液,按“2.3”项下方法测定吸光度,结果质量分数的 RSD 为 0.51%。

2.6 稳定性试验:取同一份供试品溶液分别在 0、2、4、6、8 h 测定吸光度值,结果 RSD 为 0.85%,即供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 回收率试验:取已知量的同一批蒺藜药材 9 份,每份约 0.75 g,精密称定,置具塞三角瓶中,分别

精密加入蒺藜新苷对照品 8.0、10.0、12.0 mg 各 3 份,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,测定吸光度值,结果蒺藜新苷低、中、高 3 个水平的回收率分别为 95.6% (RSD = 1.40%)、96.2% (RSD = 1.27%)、98.5% (RSD = 1.82%);平均回收率为 96.8% ($n=9$)。

2.8 样品测定:分别取不同的蒺藜药材,按 2.2 项制备供试品溶液,精密量取供试品溶液 2 mL,置 10 mL 具塞试管中,照线性关系考察项下的方法,自“精密加改良对二甲氨基苯甲醛溶液 5 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中甾体皂苷的量,计算,即得。测定结果见表 1。

3 总黄酮醇苷的测定

3.1 色谱条件:色谱柱为 Phenomenex ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.4% 磷酸(50:50);体积流量为 1.0 mL/min;检测波长为 360 nm;柱温为室温;进样量:10 μL。

3.2 对照品溶液的制备:分别精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的槲皮素、山柰酚、异鼠李素对照品适量,分别加甲醇制成含 20、10、5 μg/mL 的混合溶液,即得。

3.3 供试品溶液的制备:取蒺藜全草粉碎成细粉,取约 2 g,精密称定,加石油醚(60~90 °C) 50 mL,回流提取 1 h 时,弃去石油醚液,药渣挥干石油醚,加甲醇 100 mL,回流提取 4 h,滤过,滤液蒸干,加入甲醇:25% 盐酸溶液(4:1) 混合溶液 20 mL,回流 30 min,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

3.4 线性关系考察:取槲皮素对照品溶液(102.2 μg/mL)用甲醇配成质量浓度为 5.01、10.02、20.04、40.08 和 60.12 μg/mL 的对照品溶液,注入液相色谱仪,按拟定的色谱条件进样,记录峰面积;以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归,回归方程为: $Y = 3617417X + 24263$, $r = 0.9999$;结果表明在 50.1~601.2 ng 槲皮素的峰面积与进样量有良好的线性关系。

取山柰酚对照品溶液(101.2 μg/mL)加甲醇配成质量浓度为 3.036、6.072、12.14、18.22 和 24.29 μg/mL 的对照品溶液,按拟定的色谱条件进样,记录峰面积,以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归,回归方程为: $Y = 3359038X + 16444$, $r = 0.9993$;结果表明在 30.36~242.9 ng 山柰酚峰面积与进样量有良好的线性关系。

取异鼠李素对照品溶液(100.7 μg/mL)用甲醇配浓度为 2.014、4.028、6.042、8.056 和 10.07 μg/mL

表 1 蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of steroid saponins and total flavonol glycoside in whole plant of *T. terrestris* (n=3)

药材编号	采集地点	采集日期	样品部位	甾体皂苷/ (mg·g ⁻¹)	总黄酮醇苷/ (mg·g ⁻¹)	药材编号	采集地点	采集日期	样品部位	甾体皂苷/ (mg·g ⁻¹)	总黄酮醇苷/ (mg·g ⁻¹)
1-1	渭南·大荔	2008-05	地上	40.8	5.04	3-2	宝鸡·渭滨	2008-07	地上	16.1	1.86
1-2	渭南·华阴	2008-05	地上	35.4	4.26				果实	6.8	0.79
1-3	渭南·大荔	2008-07	地上	29.7	2.75				茎	8.4	0.86
1-4	渭南·华阴	2008-07	地上	24.7	2.55				叶	29.5	3.54
1-5	渭南·大荔	2008-07	地上	27.2	2.43	3-3	宝鸡·太白	2008-09	地上	14.2	1.68
			果实	8.2	0.87	3-4	宝鸡·渭滨	2008-09	地上	16.6	1.53
			茎	10.6	1.05	4-1	榆林·榆阳	2008-07	地上	21.4	1.69
			叶	59.3	5.08	4-2	榆林·米脂	2008-07	地上	18.7	1.75
1-6	渭南·大荔	2008-09	地上	20.4	2.22	4-3	榆林·米脂	2008-07	地上	15.4	1.63
1-7	渭南·华阴	2008-09	地上	19.6	1.84	4-4	榆林·榆阳	2008-07	地上	17.6	1.31
1-8	渭南·华县	2008-09	地上	20.8	2.36				果实	5.4	0.79
1-9	渭南·大荔	2008-10	地上	17.6	2.01				茎	6.2	0.77
1-10	渭南·华阴	2008-10	地上	18.5	1.68				叶	40.1	2.34
2-1	西安·高陵	2008-05	地上	44.8	4.86	4-6	榆林·榆阳	2008-10	地上	12.4	1.25
2-2	西安·长安	2008-05	地上	39.6	4.05	4-7	榆林·榆阳	2008-10	地上	13.7	1.53
2-3	西安·高陵	2008-07	地上	24.0	2.68	5-1	武威·古浪	2008-07	地上	18.5	2.11
			果实	7.5	1.08				果实	7.4	1.08
			茎	10.2	1.31				茎	9.5	1.26
			叶	52.6	5.57				叶	36.4	3.78
2-4	西安·长安	2008-07	地上	21.6	1.84	5-2	武威·古浪	2008-10	地上	15.2	1.38
2-5	西安·户县	2008-07	地上	22.4	2.67	6-1	洛阳·孟津	2008-07	地上	20.6	2.11
2-6	西安·长安	2008-09	地上	15.8	1.88				果实	6.3	0.75
2-7	西安·高陵	2008-09	地上	20.6	2.19				茎	10.5	1.42
2-8	西安·户县	2008-09	地上	17.3	2.07				叶	46.2	4.21
3-1	宝鸡·太白	2008-07	地上	18.5	2.17	6-2	洛阳·孟津	2008-09	地上	16.8	2.04

的对照品溶液,按拟定的色谱条件进样,记录峰面积;以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归,回归方程为:Y=3 484 548 X+7 970, r=0.999 8;结果表明在 20.14~100.7 ng 异鼠李素峰面积与进样量有良好的线性关系。

3.5 精密度试验:取同一供试品溶液,在上述色谱条件下连续进样 5 次,测定峰面积。结果槲皮素、山柰酚和异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 0.35%、0.61%、0.47%。

3.6 重现性试验:取同一批蒺藜药材粉末 5 份,按“3.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行分析测定。结果样品中槲皮素、山柰酚和异鼠李素质量分数的 RSD 分别为 0.68%、0.85%、0.51%。

3.7 稳定性试验:取同一供试品溶液分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样,结果槲皮素、山柰酚和异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 0.86%、1.25%、1.72%,即供试品溶液在 12 h 内稳定。

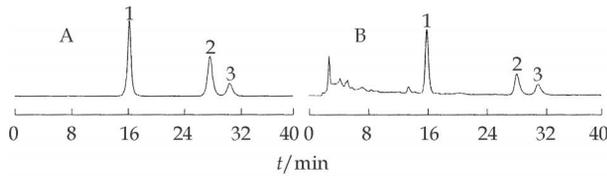
3.8 回收率试验:精密称取已测定的蒺藜药材粉末 1.0 g,共 9 份,分成 3 组,分别精密加入槲皮素对照品溶液(60.12 μg/mL)、山柰酚对照品溶液(15.18 μg/mL)和异鼠李素对照品溶液(11.22 μg/mL)4、5、6 mL

各 3 份,挥干甲醇,制成加标样品,按“3.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行分析测定,计算回收率。结果槲皮素低、中、高 3 个水平的回收率分别为 97.4% (RSD=0.86%)、99.5% (RSD=0.72%)、98.8% (RSD=1.02%);山柰酚低、中、高 3 个水平的回收率 (n=3) 分别为 98.1% (RSD=1.04%)、96.6% (RSD=1.17%)、99.2% (RSD=0.93%);异鼠李素低、中、高 3 个水平的回收率分别为 96.7% (RSD=1.84%)、95.4% (RSD=1.77%)、98.1% (RSD=1.95%) (n=3)。

3.9 样品测定:分别取采集的蒺藜样品粉末,按“3.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行分析,测定峰面积,计算样品中总黄酮醇苷的量,测定结果见表 1,色谱图见图 1。

4 讨论

4.1 检测波长的选择:取蒺藜新苷对照品溶液与对二甲氨基苯甲醛反应后,在 400~600 nm 扫描,结果在 515 nm 处有最大吸收,因此选择 515 nm 作为蒺藜新苷的测定波长;紫外扫描结果表明,槲皮素、山柰酚、异鼠李素溶液均在 360 nm 有最大吸收峰,故选择 360 nm 作为槲皮素、山柰酚、异鼠李素的检测波长。



1-槲皮素 2-山柰酚 3-异鼠李素
1-quercetin 2-kaempferol 3-isorhamnetin

图 1 对照品(A)及样品(B)色谱图

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

4.2 以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照,计算总黄酮醇苷的量,公式为:总黄酮醇苷量 = (槲皮素量 + 山柰酚量 + 异鼠李素量) × 2.51。实验结果表明,蒺藜中以槲皮素为母核的黄酮类成分量最高。

4.3 研究表明,同一采收期蒺藜全草中,以渭南、西安等地的蒺藜全草中甾体皂苷及总黄酮的量较高;蒺藜全草不同部位中以叶所含甾体皂苷和总黄酮的量最高,茎次之,果实最低;在同一地区、不同

采收时期,以 5 月份所采样品中甾体皂苷及总黄酮的量最高,但考虑到 5 月份所采蒺藜药材植株太小,仅处于生长初期,故以 7 月份蒺藜枝叶茂盛时采收为宜。

参考文献:

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上海:上海中医药大学出版社, 2006.
- [3] 顾关云, 蒋 昱. 蒺藜及其同属植物的化学与药理学研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(4): 198-202.
- [4] 孔国珍, 张 洁, 马百平. 蒺藜中甾体皂苷类化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(7): 1111-1115.
- [5] 李永国. 蒺藜提取物中黄酮类成分的高效液相色谱分析 [J]. 药物分析杂志, 1995, 15(增刊): 548-550.
- [6] 解生旭, 徐敬海, 韩 冬, 等. 蒺藜果中蒺藜呋甾皂苷 B 的 HPLC-ELSD 法测定 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 309-310.
- [7] 惠玉虎, 强 妮, 寇玉锋, 等. HPLC 法测定蒺藜提取物中原薯蓣皂苷 [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1670-1671.
- [8] 郝艳玲. HPLC 法测定蒺藜中总黄酮的含量 [J]. 实用药物与临床, 2006, 9(5): 276-278.
- [9] 涂光忠, 马立斌, 李喜来, 等. 蒺藜草中一个新的六糖甾体皂苷结构的 NMR 研究 [J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(4): 600-604.

高效液相色谱法测定祖师麻药材中祖师麻甲素

刘 冰, 吕曙华, 吴贵华, 郭景强
(天津市药品检验所, 天津 300070)

摘要:目的 建立祖师麻药材定量测定方法。方法 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5% 醋酸溶液 (25 : 75); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 327 nm; 柱温: 30 ; 进样量: 10 μL。结果 祖师麻甲素在 0.146 7 ~ 2.200 5 μg 线性关系良好 (r = 0.999 9), 平均回收率为 100.88%, RSD 为 1.60% (n = 6)。结论 本法操作简便、准确、重现性好, 可用于祖师麻药材的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 祖师麻; 祖师麻甲素

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)05-0832-03

祖师麻(祖司麻)系瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche、甘肃瑞香(陕甘瑞香、唐古特瑞香) *D. tangutica* Maxim. 及凹叶瑞香 *D. retusa* Hemsl. 的干燥茎皮及根皮, 有祛风湿、活血止痛之功效^[1], 产于甘肃、四川、陕西、山西等省山区。民间广泛用于治疗疼痛、跌打损伤、风湿性关节炎和支气管肺炎等症, 俗称“打得地上爬, 离不开祖师麻”^[2]。祖师麻中主要含有香豆素类、二萜类、木质素类、黄酮类、蒽醌类及甾醇类等化学成分, 主要含有祖师麻甲素(瑞香素)、祖师麻乙素(瑞香苷)^[2]、祖师麻丙素(紫丁香苷)^[3], 其中祖师麻甲素具有明显的镇痛、抗

炎^[4,5]、抑菌^[2]、抗血栓^[6]、中枢神经抑制作用^[7]、降压^[8]、降血脂^[9]、抗缺氧^[10]、抗腹泻^[11]等药理作用, 是祖师麻抗炎、镇痛的有效成分。对于祖师麻的定量测定也有相关报道^[12,13], 为更好地控制药材质量, 本实验采用高效液相色谱法, 以祖师麻甲素为定量指标, 建立祖师麻药材的定量测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, chemstation 工作站, METTLER AE260 电子天平, METTLER AG135 电子天平; 祖师麻甲素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0900-200001, 供

收稿日期: 2009-08-09

作者简介: 刘 冰(1975—), 男, 主管药师, 研究方向为中药质量标准的研究与制定。

Tel: (022) 23374076 E-mail: wenshui@163.com