

表 3 方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	1.535	2	0.768	264.83	* *
B	0.180	2	0.090	31.03	* *
C	0.003	2	0.001 5	0.52	
D	0.646	2	0.323	111.38	* *
SSe ₂	0.052	18	0.002 9		

注: $F_{0.05}(2,18) = 3.55$, $P < 0.05$; $F_{0.01}(2,18) = 6.01$, $** P < 0.01$ 。

结构的薯蓣皂苷元作为定量检测龙葵甾体皂苷的对照品,测定龙葵总皂苷的量,并以此指标考察正交法优选提取龙葵总皂苷的工艺,获得最佳工艺参数为 $A_2B_2C_1D_2$,即以 65% 乙醇为溶剂,溶剂用量 10 倍,提取温度 40 ℃,提取时间 40 min。

建立的香草醛-高氯酸显色定量测定龙葵总皂苷的分光光度法,操作简便、精密度高、稳定性好,可用于准确地测定龙葵中甾体类总皂苷的量。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 1977 年版 [S]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 154.
- [2] 季宇彬, 王胜惠, 高世勇, 等. 龙葵活性成分的研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2004, 20(6): 637-641.
- [3] 徐东花, 于春月, 韩成花. 龙葵的化学成分及药理作用研究 [J]. 黑龙江中医药, 2007, 36(2): 46-49.
- [4] 周新兰, 何祥久, 周光雄, 等. 龙葵全草皂苷类化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 36(11): 1618-1621.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典(上) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 630-631.
- [6] 罗文娟, 王光辉, 周新兰, 等. 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.
- [7] 赵江琼, 易以木, 徐 壹. 香草醛比色法测定葱白提取物中总皂苷含量 [J]. 医药导报, 2007, 26(9): 1075-1079.
- [8] 张春华, 周永治, 刘延福主编. 数理统计方法 [M]. 济南: 山东大学出版社, 1995: 175-178.

高效液相色谱法同时测定豨薟草中豨薟苷和奇壬醇

许凤清, 刘金旗*, 王举涛, 黄金萍, 张 娟

(安徽中医学院药学院/安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230038)

摘要: 目的 建立同时测定豨薟草中豨薟苷和奇壬醇的 HPLC 分析方法。方法 色谱条件为 Phenomenex-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-甲醇-0.05 mol/L KH₂PO₄ (24: 6: 70), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 215 nm, 柱温 30 ℃。结果 豨薟苷在 0.168 ~ 1.68 μg (r = 0.999 8) 范围内、奇壬醇在 0.266 ~ 2.66 μg (r = 0.999 9) 范围内线性关系良好, 豨薟苷和奇壬醇平均回收率分别为 98.44%、100.58%, RSD 分别为 2.27%、2.42%。结论 本法简便, 准确, 灵敏度高, 重现性好, 可用于该药材及其制剂原料中豨薟苷和奇壬醇的同时测定。

关键词: 豨薟草; 豨薟苷; 奇壬醇; HPLC

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2011)08-1444-03

豨薟草为常用中药, 始载于唐代《新修本草》, 《中国药典》2010 年版收载菊科植物豨薟 *Siegesbeckia orientalis* L.、腺梗豨薟 *Siegesbeckia pubescens* Makino. 和毛梗豨薟 *Siegesbeckia glabrescens* Makino. 的地上干燥部分, 具有祛风湿, 利筋骨的功能。临床上主要用于风湿痹痛、腰膝酸软、四肢麻木、半身不遂、风疹湿疮等症。近年来研究发现豨薟草在心血管系统、抗炎、降压扩张血管、微循环系统、免疫系统以及抗早孕方面均显示良好的活性^[1-3]。其主要成分为二萜类化合物, 包括豨薟苷、奇壬醇、豨薟苷元、豨薟苷内酯等^[4], 总萜类成分定量测定采用紫外分光光度法^[5]。目前, 奇壬醇作为其定量检测标准^[6], 本实验通过 HPLC 法检测豨薟草中另一主

要活性物质豨薟苷来完善豨薟草的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(岛津 LC-20AT); SPD-20A 紫外检测器; N2010 色谱工作站; AS3120 型超声清洗器(Auto-science 公司); CP2115D 电子天平(Sartorius 公司)。

1.2 试剂 豨薟苷对照品(由安徽中医学院药学院天然药化教研室^[7]自制); 奇壬醇对照品(中国药品生物制品检定所 111726-200601); 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。豨薟草分别收集和采购于安徽省各不同中药材产地, 由安徽中医学院中药资源教研室刘守金教授鉴定。

收稿日期: 2010-08-31

作者简介: 许凤清(1979—), 女, 硕士, 讲师, 从事中药化学成分分离分析。E-mail: qingfx@eyou.com

* 通信作者: 刘金旗, 教授, 从事天然药物化学成分研究。Tel: (0551) 5169227

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾水溶液(24:6:70); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 215 nm; 进样量: 20 μL。该色谱条件下獐豕萆、奇壬醇达到基线分离, 色谱图见图 1。

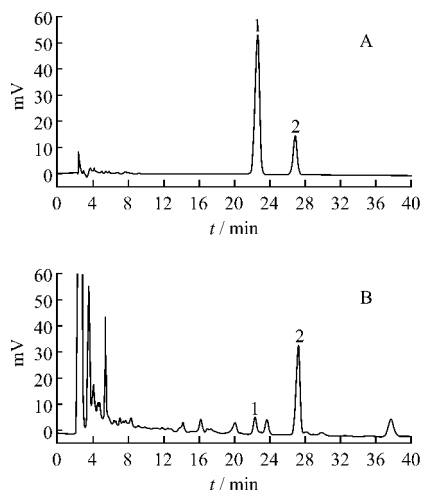


图 1 对照品 (A) 和亳州饮片厂獐豕萆 (B) HPLC 图谱
1. 奇壬醇 2. 獐豕萆

2.2 对照品溶液的制备 精密称取獐豕萆、奇壬醇对照品 1.68 mg、2.66 mg, 分别置于 10 mL 量瓶, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 5.0 mL 对照品溶液, 置 10 mL 量瓶, 甲醇稀释至刻度, 得混合对照品溶液。獐豕萆质量浓度为 84 μg/mL, 奇壬醇质量浓度为 133 μg/mL。

2.3 供试品溶液的制备^[3] 精密称取獐豕萆粉末 1 g, 置索氏提取器, 加沸程 60~90 ℃ 的石油醚浸泡过夜, 连续回流

5 h, 冷却, 取出滤纸筒, 挥尽石油醚, 转移到 100 mL 的烧瓶, 精密加入甲醇 50 mL, 称质量, 加热回流 2 h, 放置至室温, 再次称质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 续滤液作为供试品试液。

2.4 线性关系考察 精密移取獐豕萆和奇壬醇混合对照品贮备液 1、2、4、8、10、20 μL, 按 2.1 项色谱条件进行测定, 记录峰面积, 以对照品进样质量 X (μg) 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。得獐豕萆回归方程为 $Y = 843\ 867X - 34\ 778$, $r = 0.999\ 8$, 在 0.084~1.68 μg 范围内呈良好的线性关系; 奇壬醇回归方程为 $Y = 1\ 615\ 648X + 8\ 592$, $r = 0.999\ 9$, 在 0.133~2.66 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 按 2.3 项下方法制备的供试品溶液(亳州饮片厂) 重复进样 6 次, 记录峰面积, 测定獐豕萆、奇壬醇, RSD 值分别为 1.20%、1.05%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验考察 取獐豕萆样品(亳州饮片厂) 供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样, 按上述条件测定, 记录峰面积, 测定獐豕萆、奇壬醇, RSD 分别为 1.52%、1.64%, 说明样品在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取獐豕萆样品(亳州饮片厂), 精密称定 6 份, 置索氏提取器中, 按照 2.3 项下操作, 测定獐豕萆、奇壬醇, RSD 值分别为 1.82%、2.03%, 表明方法的重复性较好。

2.8 加样回收试验 取已知獐豕萆和奇壬醇质量分数(分别为 0.357%、0.053%) 的亳州饮片厂獐豕萆 0.5 g, 精密称定。按照 2.3 项下方法脱脂后, 每 3 份为 1 组分别加入 80%、100%、120% 量的獐豕萆和奇壬醇对照品后, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述的色谱条件测定, 记录峰面积, 计算獐豕萆、奇壬醇的平均回收率和 RSD 分别为 98.44%、2.27% 和 100.58%、2.42%。结果见表 1。

表 1 獐豕萆、奇壬醇加样回收试验结果 ($n=9$)

样品量/g	獐豕萆				奇壬醇			
	样品量/mg	添加量/mg	测得量/mg	回收率/%	样品量/mg	添加量/mg	测得量/mg	回收率/%
0.501 09	1.788 9	1.444 0	3.169 3	95.60	0.265 6	0.211 2	0.479 4	101.23
0.504 78	1.802 1	1.444 0	3.206 7	97.27	0.267 5	0.211 2	0.470 3	96.02
0.502 17	1.792 8	1.444 0	3.230 1	99.53	0.266 2	0.211 2	0.483 2	102.75
0.501 31	1.789 7	1.805 0	3.571 8	98.73	0.265 7	0.264 0	0.539 8	103.84
0.510 98	1.788 5	1.805 0	3.639 4	102.54	0.265 5	0.264 0	0.524 3	98.02
0.503 76	1.798 4	1.805 0	3.885 8	98.06	0.267 0	0.264 0	0.524 0	101.15
0.500 04	1.785 1	2.166 0	3.872 1	96.98	0.265 0	0.316 8	0.584 2	100.74
0.499 84	1.784 4	2.166 0	3.842 5	96.39	0.264 9	0.316 8	0.579 6	99.34
0.503 15	1.796 3	2.166 0	3.981 4	100.88	0.266 7	0.316 8	0.590 3	102.17
	平均值			98.44				100.58
	RSD/%			2.27				2.42

2.9 样品测定 按 2.3 项下方法制备样品溶液, 分别进样检测, 并记录獐豕萆和奇壬醇峰面积, 经计算, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 在样品处理的过程中, 程志宏等^[3] 曾采用石油醚脱脂法处理獐豕萆叶片中大量叶绿素, 取得较好的效果; 獐豕萆

分离工作中发现獐豕萆中富含大量的盐, 且獐豕萆在甲醇中的溶解度不佳, 本实验采用的样品处理方法达到 HPLC 样品处理要求。同时考察了甲醇-水, 乙腈-水, 甲醇-磷酸盐, 乙腈-磷酸盐溶液等流动相, 最终确定乙腈-甲醇-0.05 mol/L KH₂PO₄(24:6:70), 体积流量为 1.0 mL/min, 分离效果良

表 2 獐牙菜中獐牙菜苷、奇壬醇的测定结果 ($n=2$)

收集地	样品	质量/g	獐牙菜苷质量	奇壬醇质量
			分数/%	分数/%
岳西石关	腺梗獐牙菜	1.000 17	0.378	0.041
岳西姚河	腺梗獐牙菜	0.999 86	0.252	0.032
大蜀山	獐牙菜	1.000 05	0.070	0.141
亳州饮片厂	獐牙菜	1.000 42	0.357	0.053
亳州	獐牙菜	1.000 12	0.379	0.038
二附院药房	獐牙菜	1.000 01	0.061	0.040
药植园	獐牙菜	1.000 24	0.056	0.139
池州	獐牙菜	1.000 06	0.017	0.057
岳西姚河	獐牙菜	1.000 28	0.106	0.094
黄山汤口	獐牙菜	1.000 12	0.135	0.009
岳西石关	獐牙菜	1.000 15	0.173	0.119

好,獐牙菜苷、奇壬醇分别在 17 min、24 min 左右出峰,分析快速准确,重复性好,回收率高,是测定獐牙菜中有效成分的理想方法。

3.2 通过实验发现,安徽省各产地獐牙菜中獐牙菜苷的质量分数在 0.017%~0.379% 之间,平均质量分数为 0.18%,奇壬醇的质量分数在 0.009%~0.141% 之间,平均质量分数为 0.067%,不同种类獐牙菜中獐牙菜苷、奇壬醇质量分数变化并无规律;不同产地獐牙菜中二者质量分数相差也较大且不成比例关系。

3.3 獐牙菜苷是獐牙菜中有效成分之一,质量分数较高,以葡萄糖苷的形式存在于獐牙菜植物体中,通过文献研究发现獐牙菜苷仅为獐牙菜所独有,专属性强。因此,建议在獐牙菜的质量标准中增加獐牙菜苷并结合奇壬醇共同控制獐牙菜的质量。

参考文献:

- [1] 苏金平,刘干中,彭继道. 五种中草药对钙通道阻滞作用的初步研究 [J]. 中药药理与临床,2006,22(6):45-47.
- [2] 罗 琼,汪建平,阮金兰,等. 獐牙菜局部外用的抗炎镇痛作用研究 [J]. 湖北中医学院学报,2008,10(3):9-11.
- [3] 傅英梅,廖广仁. 獐牙菜胶囊对麻醉犬脑血流量及脑血管阻力影响的研究 [J]. 中国药房,2008,19(3):178-180.
- [4] 王 鹏. 獐牙菜乙醇提取物改善微循环及止痒的研究 [J]. 医药论坛杂志,2003,24(12):19-21.
- [5] 俞桂新,金若敏,王峥涛,等. 獐牙菜抗血栓有效组分成分分析 [J]. 中药材,2006,29(3):235-237.
- [6] 孙贵才. 复方獐牙菜胶囊对实验性大鼠急性痛风性关节炎细胞因子及 COX-2 表达影响的研究 [J]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2007.
- [7] 董祥英,陈 敏,荆 伟,等. 毛梗獐牙菜生育活性化学成分的研究 [J]. 药学学报,1989,24(11):833-836.
- [8] Xiong J, Ma Y, Xu Y. Diterpenoids from *Siegesbeckia orientalis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(3):917-921.
- [9] 杨满琴,许凤清,刘金旗. 紫外分光光度法测定獐牙菜中总萜类成分含量 [J]. 安徽中医学院学报,2008,27(2):46-47.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 年版一部 [S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:345.
- [11] 刘金旗,汪路明,钟 晔. 獐牙菜化学成分研究 [J]. 安徽中医学院学报. 2004,23(增刊):25-26.
- [12] 程志红,俞桂新,王峥涛. 獐牙菜的质量标准研究 [J]. 中国中药杂志,2005,2(4):257-259.

延龄草脂肪酸类成分分析

吴 芳, 李 涛, 郭耀武

(陕西省食品药品检验所,陕西 西安 710061)

摘要:目的 研究延龄草脂肪酸类成分及主要成分的测定。方法 采用 GC-MS 对延龄草脂肪酸类成分进行鉴定,主要成分甲酯化后,采用 GC 法定量测定。结果 延龄草脂肪酸类成分主要有 3 种;甲酯化后,主要成分亚油酸进样量在 0.585 8~4.184 μg 范围内线性关系良好, $r=0.999\ 9$,平均加样回收率为 87.6%(RSD 为 1.75%)。结论 方法均简便合理,可以用于延龄草药材脂肪酸类成分的鉴定和测定。

关键词: 延龄草; 脂肪酸; GC-MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-4528(2011)08-1446-03

延龄草(*Trillium tschonoskii* Maxim)为多年生草本植物,属于国家保护的稀有植物品种,我国分布于西藏、云南、四

川、陕西、甘肃、湖北、安徽、浙江及福建部分地区。延龄草属植物为传统名贵中药,其性味甘平,有降压、镇痛、溶血等功

收稿日期: 2010-07-27

基金项目: 陕西省科学技术研究发展计划项目(2006K16-G7)

作者简介: 吴 芳(1979—),女,主管药师,主要从事中药质量标准和化学成分研究。Tel: (029) 85239848