

HPLC 法测定蒲葵药材中 6 种组分含量*

陈艳 姚宏 李少光 李光文 罗红斌 林新华**

(福建医科大学药学院 福州 350004)

摘要 目的: 建立 HPLC 法同时测定蒲葵中荜草苷、异荜草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷、苜蓿素含量, 并比较不同产地不同部位蒲葵中 6 种组分的含量。方法: 采用 Agilent TC-C₁₈(4.6 mm×250 mm 5 μm) 色谱柱; 以甲醇(B)-0.05% 醋酸溶液(A) 为流动相 梯度洗脱(0~25 min B: 33%→45%; 25~40 min B: 45%→80%; 40~45 min B: 80%→95%; 45~50 min B: 95%→95%; 50~60 min B: 95%→33%); 流速 0.800 mL·min⁻¹; 检测波长 340 nm 柱温 30 ℃。结果: 6 个成分的检测范围分别为荜草苷: 8.59~550.0 μg·mL⁻¹(*r*=0.9997)、异荜草苷: 9.37~600.0 μg·mL⁻¹(*r*=0.9999)、牡荆苷: 8.59~550.0 μg·mL⁻¹(*r*=0.9998)、异牡荆苷: 8.59~550.0 μg·mL⁻¹(*r*=0.9995)、异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷: 7.81~500.0 μg·mL⁻¹(*r*=0.9999)、苜蓿素: 8.59~550.0 μg·mL⁻¹(*r*=0.9999); 平均回收率(*n*=3) 分别为 102.9% (RSD=4.6%)、102.3% (RSD=2.3%)、93.3% (RSD=2.1%)、95.8% (RSD=2.7%)、101.7% (RSD=1.8%)、99.2% (RSD=2.5%)。结论: 本方法具有良好的重复性, 为评价蒲葵药材的质量提供了分析方法。不同产地不同部位的含量存在显著性差异。

关键词: 蒲葵; 高效液相色谱; 荜草苷; 异荜草苷; 牡荆苷; 异牡荆苷; 异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷; 苜蓿素

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)04-0645-06

HPLC determination of the six components in *Livistona chinensis**

CHEN Yan, YAO Hong, LI Shao-guang, LI Guang-wen, LUO Hong-bin, LIN Xin-hua**

(Faculty of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

Abstract Objective: To develop an HPLC method to determinate the proportion of orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin, isorhamnetin-3-O-β-D-glucoside, tricetin of different parts in *Livistona chinensis* from different origins. **Method:** The separation was performed on an Agilent TC-C₁₈(4.6 mm×250 mm 5 μm) with a gradient elution(0-25 min B: 33%→45%; 25-40 min B: 45%→80%; 40-45 min B: 80%→95%; 45-50 min B: 95%→95%) composed of methanol(B) and 0.05% acetic acid(A). The column temperature was set at 30 ℃ with flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. The detective wavelength was set at 340 nm. **Results:** The calibration curve was linear over the concentration of 8.59-550.0 μg·mL⁻¹ for orientin(*r*=0.9997); 9.37-600.0 μg·mL⁻¹ for isoorientin(*r*=0.9999); 8.59-550.0 μg·mL⁻¹ for vitexin(*r*=0.9998); 8.59-550.0 μg·mL⁻¹ for isovitexin(*r*=0.9995); 7.81-500.0 μg·mL⁻¹ for isorhamnetin-3-O-β-D-glucoside(*r*=0.9999); 8.59-550.0 μg·mL⁻¹ for tricetin(*r*=0.9999). The average recovery of six components were 102.9%, 102.3%, 93.3%, 95.8%, 101.7%, 99.2% and the RSDs were 4.6%, 2.3%, 2.1%, 2.7%, 1.8% and 2.5%, respectively. **Conclusion:** The method is reproducible and can be used for the quality control of *Livistona chinensis*. The yields of the six components in different parts of different origins exhibit significant differences.

Key words: *Livistona chinensis*; HPLC; orient; inisoorientin; vitexin; isovitexin; isorhamnetin-3-O-β-D-glucoside; tricetin

蒲葵 (*Livistona chinensis* R. Br.) 属于棕榈科 (Trachycarpus Fortunei) 常绿乔木, 蒲葵子为该植物

* 陈可冀中西医结合发展基金·福建省高校中药学重点实验室(福建中医学院) 开放课题基金资助(CKJ2007032ZYX200710); 福建省卫生厅科研基金项目(2008-1-20); 福建省教育厅科研基金项目(JA07101) 和福建省自然科学基金(2009J011157)

** 通讯作者 Tel: (0591) 22862016; E-mail: xhlin1963@sina.com

种子,其性味平、淡,具有败毒抗癌、消瘀止血之功效。民间常用其治疗白血病、鼻咽癌、绒毛膜癌、食管癌,效果显著^[1,2]。国外文献也报道,蒲葵子提取物对肿瘤血管发生和肿瘤细胞具有较强的抑制作用^[3,4]。据文献报道^[2,5-7],蒲葵的成分主要含鞣质、酚类、糖、黄酮等。目前,仅见文献报道了蒲葵单一组分苜蓿素的含量测定方法^[8]。本文建立了蒲葵药材中荭草苷、异荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷、苜蓿素6种组分(结构式见图1)同时测定的方法,并比较了不同产地不同部位蒲葵药材中6种组分的含量,为评价蒲葵药材的质量提供了可靠的分析方法,同时为蒲葵在深加工过程中正确选择原料以及蒲葵的综合开发

利用提供科学依据。

1 仪器与材料

日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪,SPD-10A 紫外检测器(日本岛津),N-2000 双通道色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所)。RE-3000 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品荭草苷、异荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷和苜蓿素(自制,经 HPLC 测定,色谱条件见“2.3 项”,面积归一化法检测,各化合物的质量分数依次为 99.1%, 99.5%, 99.0%, 99.3%, 99.1%, 99.0%)。鉴定结果见“2.1 项”。

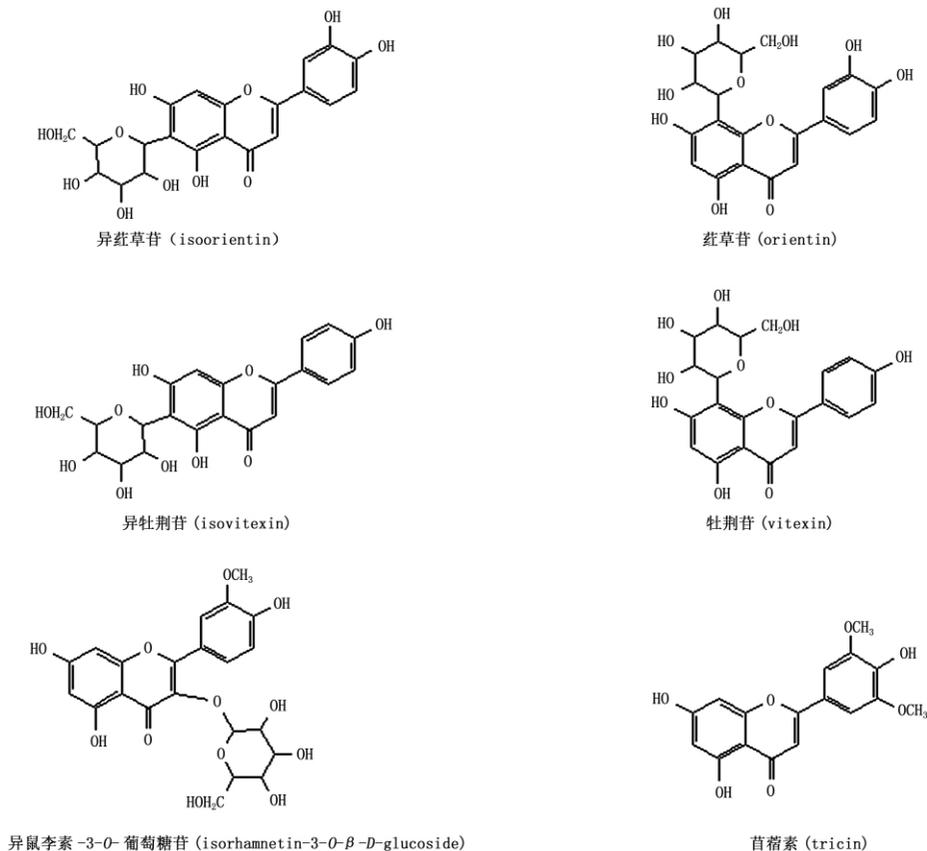


图1 6种组分的结构

Fig 1 Structures of six components

药材为采自福建3个地区的蒲葵,并经福建医科大学天然药物学系张永红教授鉴定为棕搁科植物蒲葵的叶、枝、树皮及种子,标本现存于福建医科大学药学院。甲醇、冰醋酸为色谱纯,水为双蒸水并经0.45 μm 水系滤膜过滤,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 结构鉴定

化合物1:黄色粉末,盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z : 447 $[M-H]^-$ 。IR (KBr) cm^{-1} : 3450 ~ 3200 (OH); 1651 (C=O), 1622, 1488, 1455 (Ar)。¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.36 (C-2), 102.66 (C-3), 182.29 (C-4), 160.65 (C-5), 98.43 (C-6), 162.82 (C-7), 104.81 (C-8), 156.27 (C-9), 104.30 (C-10), 122.28 (C-1'),

114.35(C-2'), 146.07(C-3'), 149.86(C-4'), 115.92(C-5'), 119.63(C-6'), 73.68(C-1''), 71.09(C-2''), 79.08(C-3''), 71.07(C-4''), 82.29(C-5''), 61.94(C-6'')。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.17(1H, s, 5-OH), 10.86(1H, s, 7-OH), 10.12(1H, s, 3'-OH), 9.12(1H, s, 4'-OH), 6.65(1H, s, H-6'), 7.48(1H, d, J=8.5 Hz, H-2'), 6.27(1H, s, H-5'), 7.54(1H, d, J=8.5 Hz, H-2), 6.85(1H, d, J=8.0 Hz, H-3), 6.27(1H, s, H-6), 4.68(1H, d, J=9.8 Hz, H-1''), 3.24~3.84(m, H-2''~H-6'')。上述数据与文献报道^[9]的荭草苷数据基本一致,故确定化合物11为荭草苷(orientin)。

化合物2:黄色粉末。AlCl₃显亮黄色,盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z: 447 [M-H]⁻。IR(KBr) cm⁻¹: 3450~3200(OH); 1649(C=O); 1626, 1567, 1517, 1451(Ar)。¹³C-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 163.92(C-2), 103.06(C-3), 182.14(C-4), 160.96(C-5), 99.80(C-6), 163.49(C-7), 109.13(C-8), 156.44(C-9), 103.67(C-10), 121.68(C-1'), 113.56(C-2'), 146.00(C-3'), 149.94(C-4'), 116.30(C-5'), 119.24(C-6'), 73.34(C-1''), 70.90(C-2''), 79.23(C-3''), 70.51(C-4''), 81.88(C-5''), 61.77(C-6'')。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.57(1H, s, OH-5), 10.60(1H, s, OH-7), 9.93(1H, s, OH-4), 9.42(1H, s, OH-3), 7.40(1H, dd, J=8.4 Hz, 2.0 Hz, H-6'), 7.39(1H, d, J=2.2 Hz, H-2'), 6.88(1H, d, J=8.3 Hz, H-5'), 6.68(1H, s, H-3), 6.68(1H, s, H-3), 6.47(1H, s, H-8), 4.58(1H, d, J=9.7 Hz, H-1''), 3.17~4.03(m, H-2''~H-6'')。以上数据与文献报道^[10]的异荭草苷的数据一致,故鉴定该化合物为异荭草苷(isoorientin)。

化合物3:黄色粉末,盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z: 431 [M-H]⁻。IR(KBr) cm⁻¹: 3450~3200(OH); 1651(C=O); 1622, 1488, 1455(Ar)。¹³C-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 182.37(C-4), 164.23(C-2), 162.82(C-7), 161.40(C-5), 160.67(C-4'), 156.28(C-9), 129.28(C-2', C-6'), 121.90(C-1'), 116.13(C-3', C-5'), 104.91(C-8), 104.32(C-10), 102.75(C-3), 98.44(C-6), 73.68(C-1''), 71.15(C-2''), 78.98(C-3''), 70.86(C-4''), 82.13(C-5''), 61.60(C-6'')。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.17(1H,

s, 5-OH), 10.85(1H, s, 7-OH), 10.36(1H, s, 4'-OH), 8.03(2H, d, J=8.5 Hz, H-2', 6'), 6.88(2H, d, J=8.9 Hz, H-3', H-5'), 6.79(1H, s, H-3), 6.27(1H, s, H-6), 4.69(1H, d, J=10.4 Hz, H-1''), 3.25~3.83(m, H-2''~H-6'')。以上数据与文献中^[11]的牡荆苷与对照一致,故鉴定该化合物为牡荆苷(vitexin)。

化合物4:橙黄色结晶(甲醇),盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z: 431 [M-H]⁻。IR(KBr) cm⁻¹: 3450~3200(OH); 1648(C=O); 1617, 1570, 1508(Ar)。¹³C-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 182.23(C-4), 163.81(C-2), 163.51(C-7), 160.93(C-5), 161.44(C-4'), 156.49(C-9), 128.73(C-2', C-6'), 121.39(C-1'), 116.25(C-3', C-5'), 93.64(C-8), 103.06(C-10), 103.72(C-3), 109.17(C-6), 73.35(C-1''), 70.89(C-2''), 79.22(C-3''), 70.54(C-4''), 81.84(C-5''), 61.76(C-6'')。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.56(1H, s, 5-OH), 10.59(1H, s, 7-OH), 10.37(1H, s, 4'-OH), 7.94(2H, d, J=8.9 Hz, H-2', 6'), 6.93(2H, d, J=8.9 Hz, H-3', H-5'), 6.79(1H, s, H-3), 6.51(1H, s, H-8), 4.59(1H, d, J=9.8 Hz, H-1''), 3.13~4.05(m, H-2''~H-6'')。波谱数据与文献中^[10-11]的异牡荆苷相对照一致,故鉴定该化合物为异牡荆苷(isovitexin)。

化合物5:黄色粉末,盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z: 461 [M-H]⁻。IR(KBr) cm⁻¹: 3450~3200(OH); 1654(C=O); 1623, 1561, 1517, 1458(Ar)。¹H-NMR(500 MHz, CH₃OH-d₄) δ: 6.21(1H, s, H-6), 6.41(1H, s, H-8), 7.94(1H, s, H-2), 6.92(1H, d, J=8.2 Hz, H-5), 7.59(1H, d, J=9.6 Hz, H-6), 5.44(1H, d, J=7.3 Hz, H-1''), 3.95(3H, s, -OCH₃), 3.00~6.00(m, H-2''~H-6'')。¹³C-NMR(500 MHz, CH₃OH-d₄) δ: 177.85(C-4), 153.39(C-2), 164.41(C-7), 161.52(C-5), 149.26(C-4'), 157.09(C-9), 112.78(C-2'), 122.22(C-6'), 127.22(C-1'), 146.80(C-3'), 114.40(C-5'), 93.13(C-8), 104.77(C-10), 133.01(C-3), 98.30(C-6), 102.40(C-1''), 74.33(C-2''), 76.96(C-3''), 69.92(C-4''), 76.50(C-5''), 60.98(C-6''), 55.20(-OCH₃)。参考文献[12]鉴定该化合物为异鼠李素-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(isorhamnetin-3-O-β-D-glucoside)。

化合物 6: 黄色针状结晶(甲醇), 盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS m/z : 331 ($M+H$)。IR (KBr) cm^{-1} : 3367 (OH); 1654 (C=O); 1611, 1507 (苯环)。 ^1H-NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.32 (2H, s, H-2', 6'), 6.98 (1H, s, H-3), 6.56 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 3.88 (6H, s, 3'-5'-OCH₃)。 $^{13}C-NMR$ (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 182.43 (C-4), 164.82, 164.31 (C-7), 163.31 (C-2), 162.00 (C-9), 157.98 (C-5), 148.79 (C-3', 5'), 140.41 (C-4), 121.02 (C-1), 104.91 (C-2', 6'), 104.32 (C-10), 104.20 (C-3), 99.47 (C-2, 6), 94.86 (C-8), 56.97 (OCH₃)。上述数据与文献报道^[13]的小麦黄酮一致, 故确定化合物 1 为 5, 7, 4'-三羟基-3', 5'-二甲氧基黄酮, 即首蓿素(tricin)。

2.2 溶液制备

对照品储备液: 分别精密称取对照品荜草苷、异荜草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷和首蓿素适量, 用甲醇溶解并稀释成每 1 mL 中分别含有 550.0 μg (荜草苷)、600.0 μg (异荜草苷)、550.0 μg (牡荆苷)、550.0 μg (异牡荆苷)、500.0 μg (异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷)、550.0 μg (首蓿素) 的混合溶液, 作为对照储备液, 避光保存。

供试品溶液: 分别取不同产地蒲葵的枝、叶、皮、仁、果皮、全果, 于 60 $^{\circ}C$ 烘箱下烘干。取烘干品, 粉碎, 过 40 目筛, 分别精密称取 2.0 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入石油醚 25 mL 超声提取 30 min, 过滤除去滤液, 重复此操作三次。再用 25 mL 甲醇超声提取 1 h, 重复两次, 合并甲醇提取液, 并将其减压浓缩, 然后用甲醇复溶残渣, 并定容到 10 mL 量瓶中, 作为供试品溶液, 进样分析前用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即为供试品溶液。

2.3 色谱条件的选择 色谱柱: Agilent TC-C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 (B) - 0.05% 醋酸溶液 (A) 梯度洗脱 (0~25 min, B: 33% \rightarrow 45%; 25~40 min, B: 45% \rightarrow 80%; 40~45 min, B: 80% \rightarrow 95%; 45~50 min, B: 95% \rightarrow 95%; 50~60 min, B: 95% \rightarrow 33%); 流速: 0.800 mL \cdot min⁻¹; 检测波长: 340 nm; 柱温: 30 $^{\circ}C$ 。

2.4 系统适用性试验 在上述色谱条件下, 各相邻色谱峰之间的分离度均大于 1.5, 拖尾因子均

在 0.95~1.05 之间; 理论塔板数均大于 9000, 满足定量要求。色谱图见图 2。

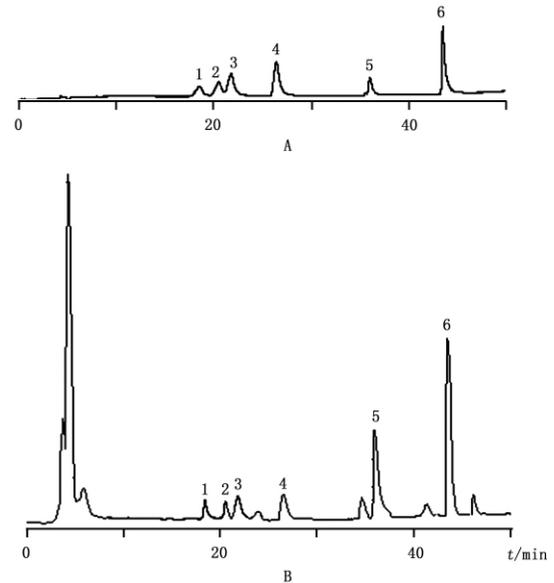


图 2 6 种对照品 (A) 与蒲葵样品 (果皮) 色谱图 (B)

Fig 2 Chromatograms of standard (A) and *Livistona chinensis* sample (pericarp) (B)

1. 荜草苷 (orientin) 2. 异荜草苷 (isoorientin) 3. 牡荆苷 (vitexin) 4. 异牡荆苷 (isovitexin) 5. 异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (isorhamnetin-3-O- β -D-glucoside) 6. 首蓿素 (tricin)

2.5 标准曲线 在上述色谱条件下, 取对照品储备液用甲醇稀释成系列混合对照品溶液, 分别进样 20 μL 分析。以对照品浓度 ($\mu g \cdot mL^{-1}$) 为横坐标 (X), 色谱峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 绘制标准曲线, 得到 6 个组分的回归方程、相关系数和谱峰参数, 见表 1。所有的标准曲线都具有很好的线性 ($r > 0.999$), 可见该方法在检测范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 取一定浓度的混合对照品溶液, 按上述色谱条件, 连续进样 5 次, 分别记录 6 种组分的峰面积, 计算得荜草苷、异荜草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷、首蓿素的 RSD 分别为 1.2%, 0.5%, 0.7%, 0.3%, 0.7%, 0.6%。

2.7 重复性考察 分别取同一产地蒲葵药材粉末 2.0 g, 按“2.2”项下方法平行制备供试品溶液 5 份, 照“2.3”项色谱条件, 进样分析, 分别求得荜草苷、异荜草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷、首蓿素含量平均值的 RSD 分别为 2.2%, 2.7%, 1.1%, 1.3%, 1.6%, 3.5%。

表 1 标准曲线 检测限以及定量限 (n=5)
Tab 1 Calibration curves ,detection limits ,quantification limits

组分 (component)	标准曲线 (calibration curve)	线性范围(linear ange) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	r	LOD /ng $\cdot \text{mL}^{-1}$	LOQ /ng $\cdot \text{mL}^{-1}$
荭草苷(orientin)	$Y=2.312 \times 10^4 X - 3.915 \times 10^4$	8.59 ~ 550.0	0.9997	4.2	8.4
异荭草苷(isoorientin)	$Y=2.848 \times 10^4 X - 4.802 \times 10^4$	9.37 ~ 600.0	0.9999	2.8	11.3
牡荆苷(vitexin)	$Y=4.827 \times 10^4 X - 7.369 \times 10^4$	8.59 ~ 550.0	0.9998	3.6	7.2
异牡荆苷(isovitexin)	$Y=5.363 \times 10^4 X - 4.789 \times 10^4$	8.59 ~ 550.0	0.9995	3.1	12.5
异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (isorhamnetin - 3 - O - β - D - glucoside)	$Y=2.099 \times 10^4 X - 2.028 \times 10^4$	7.81 ~ 500.0	0.9999	1.8	7.5
首蓿素(triclin)	$Y=5.795 \times 10^4 X - 6.179 \times 10^4$	8.59 ~ 550.0	0.9999	2.1	7.9

2.8 稳定性试验 取“2.2”项下供试品溶液,室温放置,连续5 d,每天进样1次,照“2.3”项色谱条件,进样分析,分别求得荭草苷、异荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷、异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷、首蓿素的RSD分别为1.5%,1.5%,1.8%,1.1%,1.3%,0.9%。结果表明供试品溶液在5 d内稳定。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的同一产地蒲葸药材粉末3份,每份2.0 g,精密称定,分别精密加入混合对照品储备液适量,按“2.2”项下方法制备供试溶液,照“2.3”项色谱条件,进样分析,计算加样回收率,结果见表2。6个组分的回收率在93.3%~102.9%,RSD均小于4.6%。

2.10 样品测定 取蒲葸的枝、叶、树皮、仁、果皮、全果,按“2.2”项制备供试品溶液,按“2.3”项色谱

条件,进样分析,分别计算各个产地各个部位6种组分的含量,结果见表3。

表 2 加样回收率实验结果
Tab 2 Recovery results by standard addition method (n=3)

组分 (component)	已知含量 (original) /mg	加入量 (added) /mg	测得量 (found) /mg	回收率 (recovery) /%	RSD /%
荭草苷(orientin)	0.051	0.035	0.087	102.9	4.6
异荭草苷(isoorientin)	0.040	0.042	0.083	102.3	2.3
牡荆苷(vitexin)	0.030	0.015	0.044	93.3	2.1
异牡荆苷(isovitexin)	0.033	0.024	0.056	95.8	2.7
异鼠李素-3-O- β -D- 葡萄糖苷(isorhamnetin - 3 - O - β - D - glucoside)	0.029	0.060	0.090	101.7	1.8
首蓿素(triclin)	0.193	0.124	0.316	99.2	2.5

表 3 不同产地不同部位蒲葸中6种组分的含量(mg $\cdot \text{g}^{-1}$ n=3)
Tab 3 Contents of six components in different parts of *Livistona chinensis* from different origins

产地 (origins)	部位 (parts)	荭草苷 (orientin)	异荭草苷 (isoorientin)	牡荆苷 (vitexin)	异牡荆苷 (isovitexin)	异鼠李素-3-O- β - D-葡萄糖苷 (isorhamnetin - 3 - O - β - D - glucoside)	首蓿素 (triclin)
福建福州(Fuzhou Fujian)	叶(leaf)	0.2733 \pm 1.05 **	0.1665 \pm 1.97 *	0.1399 \pm 1.69 *	0.1686 \pm 1.35 **	0.1483 \pm 1.42 *	0.0172 \pm 1.16
福建莆田(Putian Fujian)	叶(leaf)	0.2170 \pm 1.84 **	0.1564 \pm 0.89 *	0.1473 \pm 1.68 *	0.1380 \pm 1.10 **	0.1355 \pm 1.77 *	0.0093 \pm 1.11
福建厦门(Xiamen Fujian)	叶(leaf)	0.1846 \pm 1.49 **	0.1122 \pm 1.73 *	0.0968 \pm 1.68 *	0.1149 \pm 1.65 **	0.0978 \pm 1.20 *	0.0093 \pm 1.00
福建福州(Fuzhou Fujian)	枝(branch)	0.1332 \pm 3.60	0.1811 \pm 1.85 *	0.0543 \pm 1.18	0.0188 \pm 1.29	0.0218 \pm 1.74	0.0489 \pm 1.63
福建莆田(Putian Fujian)	枝(branch)	0.1794 \pm 1.74	0.0522 \pm 1.26 *	0.0451 \pm 1.26	0.0165 \pm 0.79	0.0325 \pm 1.32	0.0078 \pm 0.86
福建厦门(Xiamen Fujian)	枝(branch)	0.1962 \pm 1.90	0.1748 \pm 2.93 *	0.0678 \pm 2.07	0.0345 \pm 1.89	0.0455 \pm 2.57	0.0551 \pm 3.33
福建福州(Fuzhou Fujian)	树皮(bark)	—	0.0124 \pm 1.11	—	—	—	—
福建莆田(Putian Fujian)	树皮(bark)	—	0.0098 \pm 1.01	—	—	—	—
福建厦门(Xiamen Fujian)	树皮(bark)	—	0.0111 \pm 1.64	—	—	—	—
福建福州(Fuzhou Fujian)	仁(kernel)	—	—	—	—	0.0095 \pm 1.01	—
福建莆田(Putian Fujian)	仁(kernel)	—	—	—	—	0.0138 \pm 1.07	—
福建厦门(Xiamen Fujian)	仁(kernel)	—	—	—	—	0.0176 \pm 1.84	—
福建福州(Fuzhou Fujian)	果皮(pericarp)	0.0136 \pm 0.69	0.0121 \pm 1.12	0.0114 \pm 1.23	0.0084 \pm 0.66	0.0462 \pm 1.39 *	0.0330 \pm 1.21
福建莆田(Putian Fujian)	果皮(pericarp)	0.0210 \pm 1.99	0.0235 \pm 2.22	0.0137 \pm 1.20	0.0132 \pm 0.94	0.0771 \pm 1.90 *	0.0426 \pm 1.53
福建厦门(Xiamen Fujian)	果皮(pericarp)	0.0132 \pm 0.91	0.0128 \pm 1.57	0.0113 \pm 1.11	0.0089 \pm 1.15	0.0310 \pm 1.08 *	0.0649 \pm 2.22
福建福州(Fuzhou Fujian)	全果(fruit)	0.0096 \pm 0.86	0.0112 \pm 0.80	0.0132 \pm 1.11	0.0068 \pm 0.78	0.0234 \pm 1.10	0.0252 \pm 1.74
福建莆田(Putian Fujian)	全果(fruit)	0.0134 \pm 1.18	0.0157 \pm 1.16	0.0140 \pm 1.17	0.0114 \pm 1.08	0.0186 \pm 1.53	0.0240 \pm 2.61
福建厦门(Xiamen Fujian)	全果(fruit)	0.0142 \pm 1.00	0.0163 \pm 2.02	0.0126 \pm 1.05	0.0068 \pm 0.81	0.0266 \pm 1.48	0.0437 \pm 3.55

“—”未检出(is representative no detected); * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$. F test

3 讨论与结论

3.1 供试品溶液制备方法的考察 根据前期研究, 蒲葵子含有较多的油脂以及色素成分, 本实验先采用石油醚提取以除去这些干扰成分, 进样分析, 以不损失 6 种组分的含量为标准。采用单因素循环的方法, 分别考察了提取溶剂(不同浓度乙醇、甲醇); 提取方法(热回流、冷浸、超声提取); 提取次数(1, 2, 3 次); 提取时间(15, 30, 60 min)。进样分析, 以 6 种组分的含量进行比较, 确定了本文样品提取条件。

3.2 色谱条件的优化 分别比较了 203, 254, 280, 340 nm 4 种波长的峰数量和分离度。结果显示, 254 nm 色谱图峰数量最多, 但峰分离度较差; 203, 280 nm 色谱图, 基线波动和噪音大, 且峰没得到很好的分离; 340 nm 色谱图峰形最好, 出峰数目较多, 各色谱峰相互之间分离度较好, 因此检测波长定为 340 nm, 实现了 6 组分含量的同时测定, 获得了满意结果。在建立 HPLC 方法时, 对流动相的选择和优化进行了系统考察, 最终选择了本实验甲醇 - 0.05% 醋酸溶液的梯度洗脱条件, 经实验证实所选的色谱系统适用性好, 结果可靠。

3.3 小结 本实验首次采用梯度洗脱法, 对不同产地蒲葵的各个部位的 6 个组分进行含量测定。由表 3 可知蒲葵的叶、枝、全果、果皮同时含有这 6 种组分, 且叶和枝中的含量较高; 树皮及仁均只含有其中的 1 种组分, 分别是异荜草苷和异鼠李素 - 3 - O - β - D - 葡萄糖苷。同时通过比较不同产地的蒲葵样品, 结果表明 6 种组分的含量均有明显差别, 由于收集样品的地区较为集中, 代表性不强, 不能完全推断蒲葵药材中这 6 种组分的含量是否与产地有关, 课题组将在随后的实验中收集更多的样品进一步研究其关系。通过实验可以确定蒲葵中 6 种组分主要分布在叶以及枝中, 为后续的提取分离、抗肿瘤活性以及蒲葵药材的质量研究奠定基础。总之, 该方法简单、快速、精密度高、重现性好, 能达到蒲葵药材的质量控制的要求, 并为其他中草药的质量控制提供方法学参考。

参考文献

1 Ministry of Health of Guangzhou Military Logistics Department(广州部队后勤部卫生部). Handbook of Common Chinese herbal medicines(常用中草药手册). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 1969. 772

- 2 Jiangsu New Medical College(江苏新医学院). Dictionary of Traditional Chinese Medicine (Volume Two) (中药大辞典(下)). Shanghai(上海): Shanghai Science and Technology Publishers(上海科学技术出版社) 2006. 3430
- 3 Sartippour Maryam R, Liu CH, Shao ZM *et al.* Livistona extract inhibits angiogenesis and cancer growth. *Oncol Reports* 2001, 8(6): 1355
- 4 Cheung Susan, Tai Joseph. *In vitro* studies of the dry fruit of Chinese fan palm *Livistona chinensis*. *Oncology Reports* 2005, 14(5): 1331
- 5 LIU Zhi - ping(刘志平), CUI Jian - guo(崔建国), HUANG Chu - sheng(黄初升) *et al.* Active chemical constituents from seeds of *Livistona chinensis*(蒲葵籽中有效化学成分的研究). *Chin Tradit Herb Drug*(中草药) 2007, 38(2): 178
- 6 LIU Zhi - ping(刘志平), CUI Jian - guo(崔建国), LIU Hong - xing(刘红星) *et al.* Chemical constituents from leaves of *Livistona chinensis*(蒲葵叶化学成分研究广西植物). *Guihaia*(广西植物) 2007, 27(1): 140
- 7 CHEN Ping(陈屏). Studies on the Chemical Constituents of *Caesalpinia millettii* Hook. et Arn. *Livistona chinensis* (Jacq.) R. Br. and *Souliea vaginata* (Maxim.) Franch(小叶云实、蒲葵及黄三七化学成分研究). Beijing(北京): Chinese Academy of Medical Sciences • Peking Union Medical College Institute of Medicinal Plant Development(中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所) 2007
- 8 WANG Hui(王慧). Studies on the Chemical Components in Bioactive Part and Quality Control of Fructus *Livistonae* *chinensis*(中药蒲葵子有效部位化学成分及药材质量控制的研究). Chengdu(成都): Chengdu University of TCM(成都中医药大学) 2008
- 9 REN Yu - lin(任玉琳), YANG Jun - shan(杨峻山). Study on chemical constituents of *Saussurea tridactyla* II (西藏雪莲花化学成分的研究 II). *Chin Pharm J*(中国药理学杂志) 2001, 36(9): 590
- 10 PENG Jin - yong(彭金咏), FAN Guo - rong(范国荣), WU Yu - tian(吴玉田). Studies on chemical constituents of *Patrinia villosa* (白花败酱草化学成分研究). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志) 2006, 31(2): 128
- 11 ZHANG Pei - cheng, XU Sui - xu. C - Glucoside flavonoids from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. *J Asian Nat Prod Res* 2003, 5(2): 131
- 12 WANG Zhi - wei(王志伟), TAN Xiao - jie(谭晓杰), MA Ting - ting(马婷婷) *et al.* Isolation and identification of chemical constituents from *Artemisia capillaries* Thunb. (茵陈化学成分的分离与鉴定). *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报) 2008, 25(10): 781
- 13 LEI Ning(雷宁), DU Shu - shan(杜树山), LI Lin(李林), *et al.* Chemical constituents from a tibetan medicine *Arenaria kansuensis* I (藏药甘肃蚤缀的化学成分研究 I). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志) 2007, 32(10): 918

(本文于 2010 年 7 月 5 日收到)