

皂苷转化为次生皂苷,但目前研究却主要集中在原生皂苷,柴胡药材^[5]及制剂^[6]的质量标准也以原生皂苷为指标性成分。因此,系统地分析研究柴胡水煎前后皂苷的含量变化,揭示其转化规律及影响其转化的因素,对于中药材质量控制、阐释中药发挥功效的物质基础、制订中药制剂的质量标准具有重要的意义和参考价值。本实验对柴胡煎煮过程中皂苷含量的动态变化进行了分析,并根据实验过程中柴胡皂苷在酸、碱环境中不稳定的现象,设计了水煎液在人工胃液、人工肠液孵育的实验,实验结果显示柴胡皂苷不仅在煎煮过程中存在转化,而且在体内也存在转化。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 263.
- [2] 李军, 姜华, 张延萍, 等. 柴胡汤剂中次生柴胡皂苷结构研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(20): 3078-3082.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 85, 附录 175.
- [4] 李军, 姜华, 张延萍, 等. 第十一届全国青年药理学工作者最新科研成果交流会论文集[C]. 杭州: 中国药学会学术工作委员会, 2012.
- [5] 胡杰, 刘晓节, 秦雪梅, 等. HPLC 柱前酸化法测定柴胡中柴胡皂苷 a 和 d 的条件优化研究[J]. 中草药, 2012, 43(2): 288-292.
- [6] 霍务贞, 卫世杰. HPLC 法测定感冒清口服液中的柴胡皂苷 a、d 的含量[J]. 中国药房, 2013, 24(8): 741-743.

(编辑: 修春)

HPLC 法测定不同产地续断中常春藤皂苷元的含量

黎菊凤¹, 陈锦富², 唐少丽¹, 马仁强²(1. 暨南大学附属第一医院, 广东 广州 510630; 2. 广州博济医药生物技术股份有限公司, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 建立续断药材中常春藤皂苷元的含量测定方法, 并分析不同产地续断中常春藤皂苷元的含量, 为全面评价续断药材质量提供参考。**方法** 采用高效液相色谱分析, Hypersil C₁₈ 色谱柱, 乙腈-0.05%磷酸(55:45)为流动相, 检测波长为 210 nm。**结果** 常春藤皂苷元的保留时间为 19.22 min, 线性范围为 0.0122~1.6330 mg·mL⁻¹($r=0.9999$), 加样回收率为 100.2%。所测样品中常春藤皂苷元的含量在 5.34~45.26 mg·g⁻¹ 之间。**结论** 本法能快捷、准确测定不同产地续断药材中常春藤皂苷元, 结果显示不同产地含量存在明显差异, 可为评价不同产地续断质量提供依据。

关键词: 续断; 常春藤皂苷元; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)06-0606-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.06.020

Determination of Hederagenin in Radix Dipsaci from Different Habitats by HPLC

LI Jufeng¹, CHEN Jinfu², TANG Shaoli¹, MA Renqiang² (1. The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630 Guangdong, China; 2. Guangzhou Boji Medical Biotechnological Co., Ltd, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a HPLC method for the analysis of hederagenin in Radix Dipsaci from different habitats, thus to provide the foundation for the quality evaluation of Radix Dipsaci. **Methods** HPLC was performed on Hypersil C₁₈ column with acetonitrile-0.05% phosphoric acid(55:45) as the mobile phase and detection wavelength was 210 nm. **Results** The relative retained time of hederagenin was 19.22 min, having a good recovery of 100.2% and linear correlation in the range of 0.0122~1.6330 mg·mL⁻¹ ($r=0.9999$). The content of hederagenin in Radix Dipsaci from different habitats ranged from 5.34 to 45.26 mg·g⁻¹. **Conclusion** The method is simple and accurate for

收稿日期: 2013-06-26

作者简介: 黎菊凤, 女, 主管药师, 从事医院药学研究。Email: 18928903484@189.cn。通讯作者: 马仁强, 主管药师, 主要从事新药开发与药理学研究。Email: pony213@163.com。

基金项目: 广东省广州市生物产业示范工程发展专项资金投资项目(2012-243)。

the determination of hederagenin in Radix Dipsaci from different habitats. Hederagenin content varies greatly in Radix Dipsaci from different habitats, and the results will provide the foundation for the quality evaluation of Radix Dipsaci from different habitats.

Keywords: Radix Dipsaci; Hederagenin; HPLC

续断为川产道地药材之一, 来源于川续断科植物川续断(*Dipsacus asper* Wall.ex)的干燥根, 具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏、安胎等功效^[1]。广泛分布于四川、湖北、云南、广西等地, 资源极为丰富, 在《神农本草经》中被列为上品; 据报道^[2-4], 续断补肝肾、强筋骨、续折伤的主要活性成分是三萜皂苷类成分。有文献^[5-6]采用比色法测定了续断总皂苷的含量, 但此方法专属性较差。为了对药材进行全面的质量评价, 本实验以续断皂苷类成分的结构母核常春藤皂苷元为测定指标, 建立续断药材中常春藤皂苷元(Hederagenin)的含量测定方法, 并通过比较不同产地续断中常春藤皂苷元的含量, 为合理利用该药用植物资源及评价不同产地续断的质量提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 戴安高效液相色谱仪(P680 pump、ASI-100 Sample Injector、UVD 340U 检测器), 美国戴安公司; Sartorius BS 124S、CP 225D 电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; KQ-100DE 超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试剂 甲醇为色谱纯, 德国 Merck kGa; 磷酸为分析纯; 水为超纯水; 常春藤皂苷元对照品, 中国食品药品检定研究院, 批号: 111733-200904, 含量: 99.6%; 不同产地续断药材经广东省药品检验所李华副主任药师鉴定均为川续断科植物川续断(*Dipsacus asper* Wall.ex)的干燥根。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil C₁₈ 柱(4.6 mm × 25 cm, 5 μm)及保护柱; 流动相为乙腈-0.05%磷酸(55:45); 检测波长: 210 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃。在此条件下, 样品中的常春藤皂苷元与其他成分色谱峰均能得到较好的分离, 与相邻峰间分离度大于 1.5, 峰形良好, 理论塔板数按常春藤皂苷元峰计算不低于 3000, 见图 1、图 2。

2.2 供试品溶液的制备 取续断药材粉末(过 5 号筛)约 0.15 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(100 W, 40

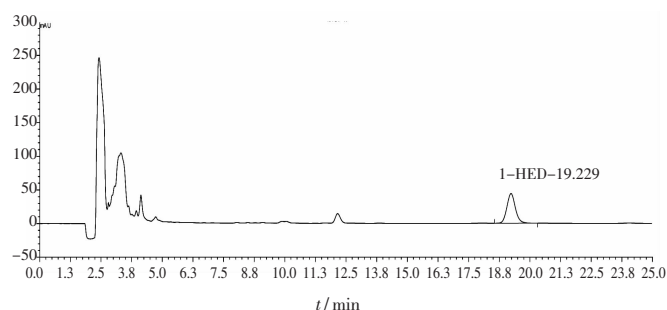


图 1 续断 HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC chromatograms of Radix Dipsaci

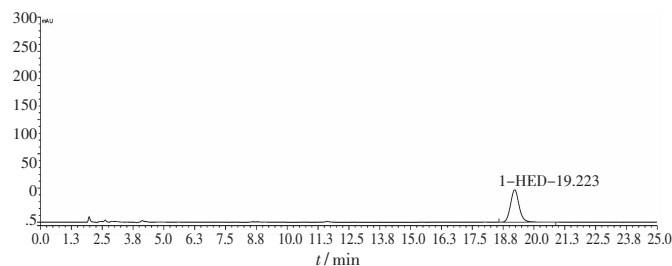


图 2 常春藤皂苷元对照品色谱图

Figure 2 HPLC chromatograms of hederagenin

kHz)1 h, 放冷, 加甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取滤液 10 mL 于具塞锥形瓶中, 再加甲醇 8 mL, 加盐酸 3.5 mL, 摇匀, 加热回流 2 h, 冷却, 转移置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.3 对照品溶液的制备 精密称常春藤皂苷元对照品适量, 加甲醇稀释制成每 1 mL 含 0.245 mg 的常春藤皂苷元溶液, 即得。

2.4 测定方法 分别精密吸取对照品溶液 10 μL 与供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪测定。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围 对照品溶液的制备: 精密称取常春藤皂苷元对照品 16.33 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照储备液(1.6330 mg·mL⁻¹)。加甲醇分别稀释制成浓度为 0.8165, 0.4899, 0.2450, 0.1225, 0.0490, 0.0122 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

分别精密吸取上述对照品溶液各 10 μL, 注入液

相色谱仪,按上述含量测定方法测定,以对照品的浓度为横坐标,测得的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,并计算得出回归方程为: $Y=76.381X+0.3822(r=0.9999)$,结果表明:常春藤皂苷元对照品浓度在 $0.0122\sim1.6330\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈现良好的线性关系。

2.5.2 精密度试验 精密吸取 2.5.1 项下浓度为 $0.245\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$,注入液相色谱仪,重复进样 6 次,按上述色谱条件测定峰面积,常春藤皂苷元峰面积 $\text{RSD}=0.81\%$,表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 取同一批续断药材(批号:120418),按上述供试品溶液制备方法平行制备 6 份,按上述含量测定方法进样测定。结果常春藤皂苷元平均含量为 $45.26\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 为 1.21% ,表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,按上述含量测定方法,分别在 0, 2, 4, 8, 10, 12 h 分别进样测定,常春藤皂苷元峰面积 $\text{RSD}=1.82\%$,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5.5 回收率试验 精密称取常春藤皂苷元对照品(含量: 99.6%) 26.69 mg ,置 200 mL 量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,作为回收用对照品储备液。

取续断药材粉末(过 5 号筛,常春藤皂苷元含量为 $45.26\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)约 0.075 g ,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入回收用对照品储备液 25 mL ,密塞,称定质量,以下操作同 2.2 项下供试品溶液的制备,制得加样回收供试溶液,精密吸取 $20\text{ }\mu\text{L}$ 进样,测定,结果常春藤皂苷元的平均加样回收率为: 100.20% ,RSD 为 2.49% ,表明该法回收率良好,结果见表1。

表 1 加样回收率试验结果

Table 1 The recovery test results

样品 编号	取样量 /mg	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 mg	回收率 / %	平均回收 率/ %	RSD / %
1	76.56	3.4651	3.32	6.8748	102.70	100.20	2.49
2	74.37	3.3660	3.32	6.7718	102.56		
3	75.07	3.3977	3.32	6.7858	101.79		
4	75.97	3.4384	3.32	6.7383	99.86		
5	75.11	3.3995	3.32	6.6548	97.97		
6	75.75	3.4284	3.32	6.6471	96.86		

2.6 不同产地续断药材中常春藤皂苷元的含量测定

对不同产地的续断样品按上述供试品溶液制备方法和色谱条件进行测定和计算,结果见表 2,不同产地续断药材中常春藤皂苷元的含量在 $5.34\sim45.26\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间。

表 2 不同产地续断中常春藤皂苷元的含量(n=3)

Table 2 Contents of hederagenin from different habitats

产地	常春藤皂苷元/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/ %
云南	10.18	1.57
湖北	24.32	2.04
四川	45.26	1.21
广西	8.01	0.93
贵州	5.34	1.84

3 讨论

实验参考 2010 年版《中华人民共和国药典》一部和相关文献^[7-15],并根据常春藤皂苷元的理化性质,比较考察了回流和超声两种提取方法,结果表明采用超声提取时,常春藤皂苷元的提取率最高,且该方法简单易行;另对超声提取条件如提取溶剂、溶剂用量及超声时间进行考察,结果表明以加入甲醇 25 mL ,超声处理 60 min 为佳;同时考察水解条件,不同酸的种类(盐酸和浓硫酸)、酸的用量及水解时间,结果以加入 3.5 mL 盐酸,酸水解 2 h 为佳。

分别比较考察了乙腈-水、乙腈-水-磷酸、甲醇-水、甲醇-水-磷酸-三乙胺等系统,结果乙腈- 0.05% 磷酸($55:45$)作为流动相时,基线平稳,峰形好,且保留时间合适。

实验表明,不同产地续断中常春藤皂苷元的含量在 $5.34\sim45.26\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。从结果看不同产地续断中常春藤皂苷元含量差异较大,四川、湖北的含量远高于其他产地、这与传统观点认为四川、湖北产者质量佳的观点是相一致的。不同产地含量差异较大,这可能与产地,采集时间以及样品储藏等因素有关。

2010 版《中华人民共和国药典》中以测定川续断皂苷 VI 作为续断的质量控制指标。本实验以续断皂苷类成分的结构母核常春藤皂苷元为测定指标,采用高效液相色谱法测定了不同产地的续断药材中常春藤皂苷元的含量,可为评价不同产地续断质量提供依据。

此外,续断中三萜皂苷类主要有常春藤型和齐墩果酸型皂苷(水解后分别为常春藤皂苷元和齐墩果酸),本实验室也比较了不同产地的常春藤皂苷元和齐墩果酸的比值,结果常春藤皂苷元均占总皂苷元的 90% 以上,说明常春藤皂苷元是本药材的主要皂苷元。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 309-310.
[2] 王岩, 周莉玲, 李锐. 川续断的研究进展[J]. 时珍国医国药,

- 2002, 13(4): 233.
- [3] 晏媛, 郑萍. 续断的药理学研究进展[J]. 中医药研究, 2002, 18(5): 53.
- [4] 钟美英, 申玉华. 川续断的研究现状[J]. 中医药导报, 2008, 14(6): 137.
- [5] 卫莹芳, 刘永, 谢达温. 不同产地续断的质量比较[J]. 华西药理学杂志, 2010, 25(2): 173-174.
- [6] 刘永, 卫莹芳, 闫婕. 不同产地续断中总皂苷的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2767-2768.
- [7] 李敬芝, 张春风, 杨中林. HPLC 法测定续断药材中常春藤皂苷元的含量[J]. 中医学报, 2011, 39(6): 62-64.
- [8] 马双成, 刘燕, 毕培曦, 等. RP-HPLC 法测定金银花药材中常春藤皂苷元及齐墩果酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(7): 886.
- [9] 毛红梅, 平欲晖, 宗星星, 等. HPLC 同时测定败酱草中常春藤皂苷元齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 89-92.
- [10] 杨紫刚, 丁鲲, 许刚, 等. 续断化学成分研究[J]. 中药材, 2012, 35(11): 1789-1792.
- [11] 吴帅, 刘二伟, 张祎, 等. 川续断中化学成分的研究[J]. 天津中医药大学学报, 2010, 29(3): 147-150.
- [12] 谭郭丽, 李敏, 吴蜀瑶, 等. HPLC 法测定川桐皮中常春藤皂苷元的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(5): 68-70.
- [13] 何宇新, 马育彪, 李玲. 反相高效液相色谱法测定不同产地无患子药材中常春藤皂苷元的含量[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2189-2190.
- [14] 郑光浩, 裴晓玲, 金研. 兴安白头翁常春藤皂苷元的含量测定[J]. 延边大学医学学报, 2012, 35(1): 30-33.
- [15] 卢永翎, 于艏, 朱婷婷. 七叶莲中特征成分常春藤皂苷元及齐墩果酸的测定研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(11): 1945-1949.

(编辑: 修春)

没食子不同提取部位没食子酸和总鞣质的含量比较研究

杨建华^{1,2}, 周言², 柳惠斌², 张虎³, 胡君萍³ (1. 新疆医科大学第一附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学附属肿瘤医院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 比较没食子不同制备部位没食子酸和总鞣质的含量。方法 以没食子酸为对照品, 分别采用 HPLC 法、干酪素比色法测定没食子药材、没食子不同制备部位没食子酸和总鞣质的含量。结果 没食子药材样品中没食子酸和总鞣质含量分别为 5.76 % 和 42.85 %, 各不同制备部位没食子酸和总鞣质含量分别为 2.23 %~54.60 % 和 17.68 %~63.53 %。结论 没食子不同制备部位中没食子酸和总鞣质的含量差异明显, 该研究为没食子药材的进一步开发和利用提供了数据支持。

关键词: 没食子; 没食子酸; 鞣质; 制备部位

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)06-0609-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.06.021

Content Comparison of Gallic Acid and Total Tannins in Different Preparative Fractions from *Turkish galls*

YANG Jianhua^{1,2}, ZHOU Yan², LIU Huibin², ZHANG Hu³, HU Junping³ (1. The First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011 Xinjiang, China; 2. Affiliated Tumor Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011 Xinjiang, China; 3. Pharmacy College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011 Xinjiang, China)

Abstract: Objective To compare contents of gallic acid and total tannins in different preparative fractions from *Turkish galls*. **Methods** With the gallic acid as reference, the contents of total tannins and gallic acid in the medicinal material of *Turkish galls* and its different preparative fractions were determined by high performance liquid

收稿日期: 2013-05-25

作者简介: 杨建华, 男, 博士, 主任药师, 研究方向: 天然药用资源的研究与开发。Email: yjh-yft@163.com。通讯作者: 胡君萍, 博士, 教授, 研究方向: 天然药用资源研究。Email: hjp-yft@163.com。

基金项目: 新疆高校科研计划重点项目(XJEDU2010I32)。