

3.4 不同生长期狗枣猕猴桃叶中狗枣猕猴桃黄酮C的含量发生变化,在6月中旬含量最高,6月末到7月中旬含量有所下降,但降幅不大。7月末至8月中旬含量明显降低,约降至6月中旬含量的一半。

因此,6月中旬为狗枣猕猴桃叶的最佳采收期。

[参考文献]

- [1] 严仲铠,李万林.中国长白山药用植物彩色图志[M].北京:人民卫生出版社,1996:285.

Study on variation of actinoside C in leaves of *Actinidia kolomikta* with different growth periods by RP-HPLC

JIN Yong-ri, GUI Ming-yu, LU Juan, LI Xu-wen, XU Ji-qing
(Chemistry College of Jilin University, Changchun 130012, China)

[Abstract] **Objective:** To determine actinoside C in the leaves of *Actinidia kolomikta* with different growth periods. **Method:** The separation was performed at 25 °C on ZORBAX Extend C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), using a mixture of methanol and water (51:49) as a mobile phase. The flow rate was 1.2 mL · min⁻¹, and the wavelength for measurement was 267 nm. **Result:** The results showed that the contents of actinoside C in the leaves of *A. kolomikta* were variety in different growth periods. Actinoside C could reach its highest content in the middle ten days of June, then the content would decrease in the middle ten days of July slightly, it could reach their lowest content in the middle ten days of August. **Conclusion:** The optimal collective date for *A. kolomikta* are in the middle ten days of June.

[Key words] *Actinidia kolomikta*; actinoside C; RP-HPLC; content

[责任编辑 牛泽宇]

RP-HPLC 测定白土茯苓中甲基氧化偶氮甲醇 樱草糖苷的含量

乔 蕾, 陈晓辉, 毕开顺*

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要] **目的:**建立白土茯苓中甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的 RP-HPLC 定量分析方法。**方法:**采用 Century C₁₈ AQ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以甲醇-水(4:96)为流动相,流速为 1.0 mL · min⁻¹,检测波长为 215 nm,柱温 35 °C。**结果:**甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷在 19.12 ~ 382.4 μg · mL⁻¹线性关系良好($r=0.9998$),方法回收率为 99.5%,RSD 为 2.1%($n=9$)。**结论:**该方法可用于白土茯苓的质量控制。

[关键词] 白土茯苓;甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷;RP-HPLC

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5302(2007)18-1900-03

白土茯苓 *Rhizoma Heterosmilacis Japonicae* 为百合科肖菝葜属植物肖菝葜 *H. japonica* Kunth.、短柱

肖菝葜 *H. yunnanensis* Gagnep.、华肖菝葜 *H. chinensis* Wang. 的干燥块茎。春、秋二季采挖,除去须根及泥沙,洗净,趁鲜切片,晒干。主要分布于陕西、甘肃、安徽、浙江、江西、福建、台湾、湖南、广东、四川、云南等地。收载于四川、贵州、湖南省中药材

[收稿日期] 2006-11-22

[通讯作者] * 毕开顺, Tel: (024) 23986296, E-mail: bikaishun@ yahoo. com

标准^[1]。白土茯苓味甘、淡,性平。主治小便淋涩,白浊,带下,痈肿疮毒。临床多用于治疗阳梅毒疮,筋骨疼痛,瘰疬痈肿,钩端螺旋体病。据文献报道,甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷为一种强致癌物质,能引起豚鼠神经中毒^[2]。作者采用正交试验设计考察了白土茯苓中的甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的提取工艺,建立了白土茯苓中的甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的 RP-HPLC 定量分析方法,可以控制白土茯苓药材中毒性成分的含量,从而更好地控制其质量。

1 仪器与试剂

LC-10A 岛津高效液相色谱仪,SPD-10A 岛津紫外检测器,ChromTek Workstation 色谱工作站,HB-230A 柱温箱(汉邦科技公司);RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);AB135-S 电子天平(METTLER TOLEDO 仪器有限公司)。甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司禹城化工厂),其他试剂为分析纯。

白土茯苓药材共 12 批,由沈阳药科大学孙启时教授鉴定。来源见表 1。

表 1 样品甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的测定

产地	含量/%
云南文山州	0.252
广西河池	0.024 7
贵州紫云县	10.184
贵州紫云县	20.133
贵州关峰县	0.125
四川 1	0.065 7
四川 2	0.111
四川宜宾县	0.152
贵州镇平县	0.049 5
安徽大别山	0.343
广西临桂县	0.032 1
贵州黄平县	0.142

对照品为本实验室自制,经 UV, IR, NMR, MS 鉴定为甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷,经面积归一化法测定纯度为 99.8%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Century C₁₈ AQ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-水(4:96); 流速 1 mL · min⁻¹; 检测波长 215 nm; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷对照品适量,置 25 mL 量瓶中,用流动相溶解并定容至刻度,摇匀,制成质量浓度为 956 μg · mL⁻¹的甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷对照品溶

液。

2.3 供试品溶液的制备 取白土茯苓药材粉末约 1 g,精密称定,加入 80% 甲醇 15 mL,80 °C 水浴回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液并过滤,回收溶剂后用流动相溶解并转移至 10 mL 量瓶中,定容至刻度,摇匀,经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,作为供试品溶液。

2.4 系统适用性试验 在上述色谱条件下,甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷与相邻峰的分度度均大于 1.5,拖尾因子介于 0.95 ~ 1.05,理论塔板数以甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷计算不低于 1 万。色谱图见图 1。

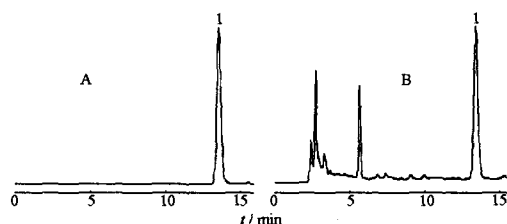


图 1 白土茯苓药材的 HPLC 图

A. 对照品; B. 样品; 1. 甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷

2.5 线性关系考察 分别吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.0, 4.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,制成质量浓度依次为 19.12, 38.24, 76.48, 153.0, 286.8, 382.4 μg · mL⁻¹ 的标准系列溶液。按上述色谱条件测定。以对照品溶液质量浓度 X (μg · mL⁻¹) 对峰面积 Y 进行线性回归,回归方程为 $Y = 2.18 \times 10^4 X - 6.97 \times 10^3$ ($r = 0.999 8$)。甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷在 19.12 ~ 382.4 μg · mL⁻¹ 线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL, 进样分析,重复进样 6 次,测得甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷峰面积的 RSD 1.2%。

2.7 重复性试验 精密称取同一产地(贵州黄平县)的白土茯苓药材粉末 1.0 g,按供试品溶液制备项下制备 6 分样品溶液,按上述色谱条件测定,测得甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的含量的 RSD 1.6%。

2.8 加样回收率试验 精密称取已测得含量的白土茯苓药材粉末(贵州黄平县)9 分,各 0.5 g。每 3 分分别加入高、中、低 3 个不同质量浓度的甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷对照品溶液,按供试品溶液的制备项下制备样品溶液,按上述色谱条件测定,结果平均回收率为 99.5% ($n = 9$, RSD 2.1%)。

2.9 稳定性试验 精密称取白土茯苓药材,按供试品溶液的制备项下制备成供试品溶液,并分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h按上述色谱条件测定,结果甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷峰面积的RSD 2.0%,表明样品溶液在24 h内稳定性较好。

2.10 样品测定 精密吸取供试品溶液10 μL ,注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定,采用外标一点法计算样品中甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的浓度,结果见表1,图1。

3 讨论

在对含量测定的提取工艺进行考察时,考察了回流提取,超声提取和冷浸3种提取方法与甲醇、95%乙醇和水3种提取溶剂,结果表明甲醇回流提取效率较高。同时又考察了体积分数分别为30%, 50%, 80%的甲醇为提取溶剂,结果表明80%的甲醇提取效率最高,确定为80%的甲醇为提取溶剂。在此基础上,用正交试验设计对白土茯苓的含量测定时的提取工艺进行优化,考察了溶剂量、提取时间和提取次数,

经过直观分析和方差分析,确定最佳提取工艺为10倍量80%的甲醇回流提取3次,每次1 h。

据文献报道甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷对人、羊、猪和豚鼠都有毒性,有关甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷对人体的中毒剂量尚未有文献报道,而豚鼠口服灌胃给予甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 12~18 h后死亡。所以建议在白土茯苓用药时应注意控制其中甲基氧化偶氮甲醇樱草糖苷的含量^[3]。

[参考文献]

- [1] 于泳江,张思巨,刘丽. 肖菝葜化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(1): 19.
- [2] Louw Werner K A, Oelofsen Willem. Carcinogenic and neurotoxic components in the cycad *Encephalartos altensteinii* Lehm. (family zamiaceae)[J]. Toxicol, 1975, 13(6): 447.
- [3] Cooper Joyce M. Isolation of a toxic principle from the seeds of *Macrozamia spiralis*[J]. Journal and Proceedings of the Royal Society of New South Wales, 1941, 74: 450.

Determination of macrozamin in *Rhizoma Heterosmilacis Japonicae* by RP-HPLC

QIAO Lei, CHEN Xiao-hui, BI Kai-shun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a RP-HPLC method for the determination of the content of macrozamin in *Rhizoma Heterosmilacis Japonicae*. **Method:** A Century C₁₈ AQ column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) was used with the mobile phase consisted of water (4:96). The flow rate was $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The detection wavelength was set at 215 nm, and the column temperature was 35 $^{\circ}\text{C}$. **Result:** The calibration curve was linear ($r=0.9998$) in the range of 19.12~382.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for macrozamin, the average recovery of the method was 99.5%, with RSD 2.1% ($n=9$). **Conclusion:** This method can be used for the quality study of *Rhizoma Heterosmilacis Japonicae*.

[Key words] *Rhizoma Heterosmilacis Japonicae*; macrozamin; RP-HPLC

[责任编辑 牛泽宇]