

· 药物分析 ·

反相高效液相色谱法同时测定不同产地仙茅中仙茅苷和仙茅苷乙的含量

曾 倩¹, 纪 晖² (1. 中国人民解放军海军总医院药剂科, 北京 100047; 2. 中国人民解放军海军后勤部卫生部, 北京 100841)

[摘要] 目的 测定不同产地仙茅中仙茅苷和仙茅苷乙的含量, 以为仙茅药材生产和临床应用提供科学的依据。方法 根据仙茅在我国的地理分布特点, 采集 12 个不同地区产仙茅药材, 并收集了 6 个商品药材, 应用 HPLC-DAD 技术测定仙茅苷和仙茅苷乙的含量。结果 不同产地的仙茅药材、采集药材和商品药材间仙茅苷和仙茅苷乙的含量存在较大差异。12 个采集样品中, 仙茅苷的含量范围为 0.028% ~ 0.538%, 仙茅苷乙的含量范围为 0.103% ~ 0.330%; 6 个仙茅商品药材中, 仙茅苷的范围为 0.161% ~ 0.733%, 仙茅苷乙的含量为 0.033% ~ 0.123%, 商品药材中仙茅苷相对含量明显高于采集样品。结论 不同地区产仙茅药材中仙茅苷和仙茅苷乙的含量不同, 表明仙茅药材的品质可能与地理位置、气候、采收时间、生长年限和加工、贮藏等因素有关。

[关键词] 仙茅; HPLC; 仙茅苷; 仙茅苷乙

[中图分类号] R917 [文献标志码] A [文章编号] 1006-0111(2010)03-0196-03

Simultaneous determination of curculigoside and curculigoside B in the rhizome of *Curculigo orchoides* from different regions by HPLC-DAD

Zeng Qian¹, Ji Hu² (1. General hospital of PLA Navy Beijing 100047, China; 2. Health Department Of Naval Logistic command, Beijing 100841, China)

[Abstract] **Objective** To determine the content of curculigoside and curculigoside B in the rhizome of *Curculigo orchoides* from different regions and provide scientific basis for production and clinical application of these medicinal materials. **Methods** According to the characteristic of geographical distribution of *Curculigo orchoides*, 12 medicinal materials from different locations as well as 6 commercial medicinal materials were collected. The method of HPLC-DAD was used to determine the content of curculigoside and curculigoside B. **Results** There have significant varieties in the content of curculigoside and curculigoside B among 12 collected *Curculigo orchoides* samples and 6 commercial medicinal materials. For collecting samples, the content of curculigoside and curculigoside B were 0.028% ~ 0.538% and 0.103% ~ 0.330% respectively. For commercial samples, the content of curculigoside and curculigoside B were 0.161% ~ 0.733% and 0.033% ~ 0.123%, respectively. The contents of curculigoside were higher in commercial samples than in collecting samples. **Conclusion** There have significant varieties in the content of curculigoside and curculigoside B in 12 collected *Curculigo orchoides* samples which indicated that the quality of *Curculigo orchoides* may be related with geographic location where it grows, climates, growing and collecting times, and the method of process and storage.

[Key words] *Curculigo orchoides* Gaertn; HPLC; Curculigoside; curculigoside B

仙茅为常用中药, 来源于石蒜科植物仙茅 *Curculigo orchoides* Gaertn 的根茎, 具有补肾助阳、益精血、强筋骨和行血消肿的作用, 用于肾阳不足、阳痿遗精、虚癆内伤和筋骨疼痛等病症^[1]。研究表明仙茅的化学成分主要有皂苷、酚及酚苷和木脂素类化合物^[2-5]。药理学研究发现仙茅具有补肾壮阳、保肝、降血糖和抗骨质疏松等作用^[6-9]。仙茅在我国资源丰富, 主要分布于四川、云南、贵州、广西等省区。生长在不同地区的中药材, 由于地理位置、气候和土壤等生长环境的影响, 其化学成分的组成和含

量常存在较大的差异, 直接影响临床用药的安全有效。为了更好的控制药材质量, 本文采用高效液相色谱法测定了不同产地仙茅及商品药材中仙茅苷和仙茅苷乙的含量, 以为仙茅药材的质量评价提供方法学基础和科学依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 系列高效液相色谱仪, 包括四元泵、手动进样器、二极管阵列检测器 (DAD)、柱温箱、真空脱气机, Chemstation 10.2 工作站, 色谱柱: Eclipse XDB C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm), BP211D 十万分之一天平 (德国 Sartorius 公司)。

1.2 试剂 仙茅药材由作者采集或购买于重庆、云

[作者简介] 曾倩 (1974-), 女, 主管药师。Tel 13601066282, E-mail zeqh@sina.com.

南、贵州、广西等地区。对照品仙茅苷和仙茅苷乙均从仙茅中分离制备, 结构经 UV, IR, MS, NMR 鉴定。化合物经 HPLC 检测纯度均达到 98% 以上。醋酸(分析纯, 上海国药化学试剂集团); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher Scientific); 水(杭州娃哈哈纯净水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Eclipse XDB C₁₈, 4.6 mm

× 250 mm, 5 μm; 柱温: 30 °C; 流动相: 0.1% 醋酸(A)-乙腈(B), 梯度洗脱 92% A ~ 8% B (0~ 12 min), 90% A ~ 10% B (12~ 35 min), 80% A ~ 20% B (35~ 50 min), 70% A ~ 30% B (50~ 65 min); 流速 0.7 mL/min; 检测波长: 280 nm, 在上述色谱条件下仙茅苷乙和仙茅苷的保留时间分别为 12.664 min 和 44.618 min 见图 1。

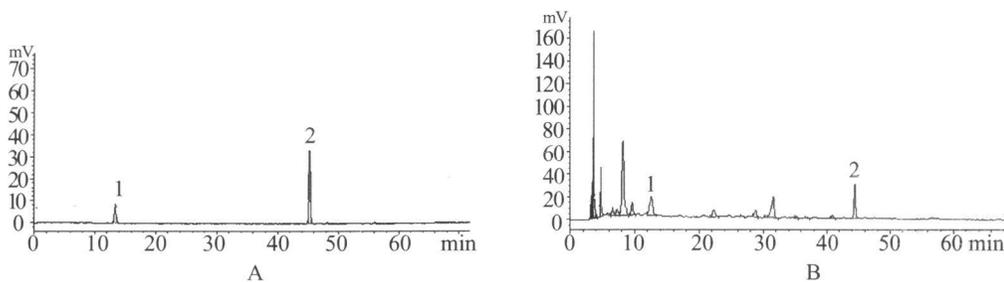


图 1 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 色谱图
1仙茅苷乙; 2仙茅苷

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取仙茅苷和仙茅苷乙对照品 9.6 mg 和 10.2 mg 置于 25 mL 量瓶中, 加入少量 20% 甲醇超声溶解, 完全溶解后加入 20% 甲醇至刻度, 摇匀, 作为贮备液。

2.3 供试品溶液的制备 仙茅药材 22~ 25 °C 自然风干, 粉碎后过 2 号筛, 精密称取药材粉末 500 mg 置 250 mL 烧瓶中, 加入 50 mL 甲醇水浴加热回流提取两次, 每次 2 h 合并滤液, 50 °C 水浴蒸干, 用 20% 甲醇超声溶解置于 10 mL 容量瓶中, 通过 0.45 μm 滤膜, 滤液置于棕色样品瓶中, 作为供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系 精密吸取仙茅苷和仙茅苷乙对照品溶液各 0.05, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0, 1.5 和 2.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 20% 甲醇定容至刻度得到不同浓度的混标溶液, 在上述色谱条件下测定峰面积, 以峰面积(Y)对浓度(X)进行回归分析, 计算回归方程为: 仙茅苷 $Y = 0.3146X - 3.0951$, $R^2 = 0.9997$, 线性范围: 38.4~ 1536 ng; 仙茅苷乙 $Y = 0.8099X + 5.1192$, $R^2 = 0.9995$, 线性范围: 40.8~ 1632 ng, 线性关系均良好, 可用于药材含量测定。

2.4.2 精密度试验 取中间浓度的混合标准品溶液, 连续进样 5 次, 在上述色谱条件下测定峰面积, 仙茅苷峰面积 RSD 为 1.23%, 仙茅苷乙峰面积 RSD 为 3.13%, 表明此法重复性良好。

2.4.3 重现性试验 精密称取采于四川省攀枝花市米易县仙茅药材粉末 500 mg 共 5 份, 按 2.3 项下操作, 在上述色谱条件下进行测定, 结果仙茅提取液

中仙茅苷和仙茅苷乙浓度的 RSD 分别为 1.04% 和 0.86%。

2.4.4 稳定性试验 取四川省攀枝花市米易县仙茅药材提取液溶液, 分别于当天 0, 2, 4, 8, 12 和 24 h 进行测定, 仙茅苷峰面积 RSD 为 1.59%, 仙茅苷乙峰面积 RSD 为 3.49%, 表明此法稳定性良好。

2.4.5 回收率试验 精密称取一定量已知含量的样品, 分别精密加入仙茅苷和仙茅苷乙标品适量, 按 2.3 项下操作, 在上述色谱条件下进行测定, 计算回收率, 仙茅苷和仙茅苷乙的平均回收率分别为 97.6% 和 98.2%, RSD 分别为 2.54% 和 2.81% (表 1)。

表 1 回收率实验结果 (n = 6)

样品含量 (ng)	加入量 (ng)	测定值 (ng)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD% (n = 6)
仙茅苷					
522.7	153.6	678.9	101.7	97.6	2.54
522.7	153.6	675.4	99.4		
392.5	230.4	611.3	95		
392.5	230.4	615.8	96.9		
261.1	307.2	559.3	97.1		
261.1	307.2	554.2	95.4		
仙茅苷乙					
121.5	153.6	280.3	103.4	98.2	2.81
121.5	153.6	268.5	95.7		
91.1	230.4	319.4	99.1		
91.1	230.4	315.9	97.6		
40.5	307.2	335.6	96.1		
40.5	307.2	339.5	97.3		

2.5 样品测定 分别取对照品和供试品溶液, 在上

述色谱条件下进行测定,以外标法计算样品中仙茅苷和仙茅苷乙的含量。结果如表 2所示,12个采集样品中,仙茅苷的含量范围为 0.028% ~ 0.538%,以云南峨山的含量最高;仙茅苷乙的含量范围为 0.103% ~ 0.330%,以云南宜良的含量最高;6个仙茅商品药材中,仙茅苷的范围为 0.161% ~ 0.733%,以购于吉林的商品药材含量最高;仙茅苷乙的含量为 0.033% ~ 0.123%,以购于云南的商品药材含量最高。商品药材中仙茅苷含量明显高于采集样品。

~ 1 850 m 的生境中,且由于地貌的不同,四川盆地和云贵高原有着不同的气候特征,从而导致不同产地的仙茅中仙茅苷和仙茅苷乙含量差异较大。

不同地区产仙茅及采集样品和商品药材间,仙茅苷和仙茅苷乙含量存在较大的差异。仙茅作为一种多年生草本植物,其根茎化学成分的形成和积累不仅与生长地区的地理位置和气候条件有关,还可能受到采收年限、采收时间和加工、贮存等因素的影响,提示我们对仙茅药材进行品质评价,应对上述因素进行综合考虑,以确保临床用药的安全有效和质量可控。这一结果也为仙茅药材的 GAP种植提供了一定的参考资料。

表 2 不同产地仙茅中仙茅苷和仙茅苷乙的含量

序号	药材采购地点	仙茅苷含量 (%)	仙茅苷乙含量 (%)
1	重庆市璧山县清杠乡	0.161	0.124
2	重庆市巴南区石龙镇	0.035	0.103
3	四川省眉山市彭山县江口镇	0.306	0.233
4	四川省乐山市峨眉山市峨山镇	0.045	0.159
5	四川省宜宾市宜宾县泥溪镇	0.126	0.163
6	四川省攀枝花市米易县攀连镇	0.075	0.143
7	云南省昆明市宜良县九乡	0.015	0.330
8	云南省曲靖市罗平县板桥镇	0.069	0.232
9	云南省文山州文山县追栗街镇	0.028	0.263
10	云南省红河州屏边县县城	0.102	0.186
11	云南省峨山县双江镇	0.538	0.311
12	广西省靖西县 (广西植物园栽培)	0.038	0.147
13	购于重庆市九龙坡区	0.728	0.037
14	购于云南省昆明市	0.351	0.122
15	购于上海市杨浦区	0.733	0.059
16	购于吉林省长春市	0.234	0.033
17	购于河南省洛阳市	0.161	0.091
18	购于山东省临沂市	0.186	0.123

【参考文献】

[1] 中国药典·2005年版一部 [S]. 2005: 66.
 [2] Xu JP, Xu RS. Cycbartan-type saponins and their glycosides from *Curculigo orchoides* [J]. Phytochemistry 1992; 31(7): 2455.
 [3] 李 宁, 贾爱群, 刘玉青, 等. 仙茅中两个新的环阿尔廷醇型三萜皂苷 [J]. 云南植物研究, 2003; 25(2): 241.
 [4] Fu DX, Lei GQ, Cheng XW, et al. Curculigoside C, a new phenolic glucoside from rhizomes of *Curculigo orchoides* [J]. Acta Botanica Sinica 2004; 46(5): 621.
 [5] 徐俊平, 董亲颐. 仙茅的化学成分研究 I 仙茅甙和苔黑酚葡萄糖甙的分离鉴定 [J]. 中草药, 1986; 17(6): 8.
 [6] Venkumar MR, Latha MS. Hepatoprotective effect of the methanolic extract of *Curculigo orchoides* in CCl_4 -treated male rats [J]. Indian Journal of Pharmacology 2002; 34(4): 269.
 [7] Chauhan NS, Dixit VK. Antihyperglycemic activity of the ethanolic extract of *Curculigo Orchoides* Gaertn [J]. Pharmacognosy Magazine, 2007; 3(12): 237.
 [8] 张 梅, 宋 芹. 仙茅对去势小鼠补肾壮阳作用有效部位研究 [J]. 四川中医, 2005; 23(5): 22.
 [9] Cao DP, Zheng YN, Qin LP, et al. *Curculigo orchoides*, a traditional Chinese medicinal plant, prevents bone loss in ovariectomized rats [J]. Maturitas 2008; 59: 373.

[收稿日期] 2010-03-02

[修回日期] 2010-04-25

3 小结和讨论

通过测定不同产地仙茅中仙茅苷和仙茅苷乙的含量,发现仙茅药材中仙茅苷和仙茅苷乙含量差异较大。本研究所采集的仙茅样品分布于东经 102.06° ~ 106.87°, 北纬 23.15° ~ 30.11°, 海拔 315

《药学实践杂志》征稿启事

来稿文字要求精练紧凑,通顺准确,重点突出,层次清晰。论著文稿一般勿超过 4 000 字,综述文稿勿超过 6 000 字。其他文稿勿超过 3 000 字。2 000 字以上的文稿请附 200 字左右的中文摘要(写在正文前),并注出关键词(一般 2~5 个)。实验性研究和理论指导类文章请用另纸打字附英文题名、作者汉语拼音名、作者英文单位名、英文摘要、英文关键词。综述、科研简报(附全文)等稿附英文题名及作者汉语拼音名。英文摘要内容与中文摘要一致。作者姓名用汉语拼音,姓在前,名在后,姓全部大写,名的首字母大写。

本刊现已采用网上投稿、审稿系统,作者可通过上网投稿、查询。网址: <http://www.yxsjzz.cn>

本刊来稿收取稿件处理费,每篇 30 元。请作者在投稿的同时将处理费通过邮局寄汇本刊,收款地址:上海市国和路 325 号,收款人:药学实践杂志编辑部,邮编:200433。汇款单上请注明论文题目及第一作者姓名。