

不同生长期栽培及野生平贝母的总生物碱分布

马微微, 蔡妙婷, 邹云峰, 艾丹, 南洋, 王振月*
(黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的:研究药用植物平贝母中总生物碱的分布,为平贝母地上部分的开发提供依据。方法:平贝母生物碱组分的分离对比采用薄层色谱法;总生物碱含量测定采用酸性染料比色法。结果:平贝母不同生长部位的生物碱组分存在差别。平贝母栽培品地上部位在营养生长期、花期、果期总生物碱含量分别为地下部位的 2.361,2.310,2.193 倍,平贝母野生品地上部位在营养生长期、花期总生物碱含量分别为地下部位的 1.870,1.496 倍。结论:平贝母植株中总生物碱含量虽略有波动,且不同生长部位生物碱组分存在差别,但总体上平贝母地上茎叶的总生物碱含量高于地下鳞茎,存在进一步研究与开发的价值。

[关键词] 平贝母; 总生物碱; 含量测定; 药用资源

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)09-0118-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014090118

Alkaloid distribution of Cultivated and Wild *Fritillaria ussuriensis* from Different Growing Period

MA Wei-wei, CAI Miao-ting, ZOU Yun-feng, AI Dan, NAN Yang, WANG Zhen-yue*
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the distribution of the total alkaloid in the *Fritillaria ussuriensis*, to provide the data basis for the ground part of the *F. ussuriensis* development and utilization. **Method:** Thin-layer chromatography was used to preliminary determine whether the alkaloid components in *F. ussuriensis* different growth area were the same, and total alkaloid content of different origin and growth period of *Fritillaria ussuriensis* aboveground and underground part by acid dye colorimetry. **Result:** There was a difference in *F. ussuriensis* alkaloid component of different growth area. Total alkaloid contents in cultivated *F. ussuriensis* ground parts of the vegetative growth, flowering, fruiting period were 2.361, 2.310, 2.193 times more than underground parts. Wild *F. ussuriensis* aerial parts of vegetative growth, flowering phase were 1.870, 1.496 times more than underground parts. **Conclusion:** In *F. ussuriensis* plants' total alkaloid content with some fluctuations, and different growth parts of the alkaloid component there is a difference, but in general the total alkaloid content of *F. ussuriensis* ground stems and leaves was significantly higher than the underground bulbs, so there is a certain development and utilization value.

[Key words] *Fritillaria ussuriensis*; total alkaloid; determination of content; medicinal resource

中药平贝母为百合科贝母属植物平贝母的干燥鳞茎,1990 年收载入《中国药典》。平贝母主要分布于我国东北地区,在黑龙江许多城市均有种植。其主要有效成分为生物碱,具有清热润肺、化痰止咳的

功效,还具有抗溃疡、抗血小板凝聚作用^[1-2]。《中国药典》以其总生物碱含量作为质量评价的标准^[3]。对平贝母总生物碱及单体生物碱的测定方法有酸性染料法^[4]、非水滴定法^[5]、HPLC-UV^[6]、

[收稿日期] 20130512(003)

[基金项目] 黑龙江中医药大学优秀青年教师支持计划项目(2012RCQ15);黑龙江中医药大学大学生科技创新实验研究项目(035073)

[第一作者] 马微微,博士,讲师,从事中药资源与开发研究,Tel:13936266956,E-mail:mawei-wei@163.com

[通讯作者] *王振月,教授,博士生导师,从事中药资源与鉴定的研究,Tel:13314514353,E-mail:wangzhen_yue@163.com

HPLC-ELSD^[7]、HPLC-GC^[8]等。平贝母地上茎叶的研究相对缺乏,我国大部分平贝母产地将地上部分弃废。本实验通过薄层色谱法^[10]对平贝母不同部位生物碱组分的对比,并运用酸性染料比色法对不同生长期平贝母的地上及地下部分总生物碱含量进行测定,研究平贝母总生物碱分布情况,并为平贝母的质量评价提供参考数据。

1 材料

1.1 药材 平贝母野生品采挖自哈尔滨帽儿山,栽培品种来源于黑龙江中医药大学药用植物园,均由中药资源教研室王振月教授鉴定为 *Fritillaria ussuriensis* Maxim。

1.2 仪器与试剂 UV-1601 型紫外分光光度计(日本岛津),BS224S 型精密电子天平,贝母素乙对照品(天津一方科技有限公司,纯度≥98%),其他试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 平贝母地上及地下部位生物碱组分的对比

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取贝母乙素对照品 5.1 mg,用二氯甲烷定容于 10 mL 量瓶中,作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 分别取干燥平贝母地上、地下部位样品研成细粉,精密称重,加入 5% 醋酸溶液^[11] 15 mL,震荡,密封静置 48 h 后,超声提取 30 min,过滤,洗涤,滤液用 20 mL 二氯甲烷萃取,蒸干溶剂,加二氯甲烷 0.5 mL 溶解备用^[12]。

2.1.3 生物碱组分比较 吸取供试品溶液 3 ~ 5 μL 和对照品溶液 2 μL,分别点于同一硅胶-G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(6:1:0.5)为展开剂展开后,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液显色。综合分析色谱分离结果,平贝母地上部分生物碱种类多于地下部分,且同样存在贝母素乙。

2.2 总生物碱含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取贝母素乙对照品 5.15 mg,置 50 mL 量瓶中,加二氯甲烷使溶解,并稀释至刻度,制成 0.103 g·L⁻¹ 贝母素乙对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别取干燥平贝母地上、地下部位样品研成细粉,精密称重,加入 5% 醋酸溶液 15 mL,震荡,密封静置 48 h 后,超声提取 30 min,过滤至 20 mL 量瓶中,洗涤定容。

2.2.3 波长选择 分别吸取地上、地下部位样品溶液适量于分液漏斗,加入溴甲酚绿试液 2 mL,缓冲溶液 5 mL 摇匀,再精密加入 8 mL 二氯甲烷,振摇,

放置分层 50 min。取二氯甲烷层溶液在 300 ~ 500 nm^[13] 扫描,结果表明地上及地下样品溶液最大吸收波长约为 412 nm。

2.2.4 标准曲线 分别吸取对照品溶液 0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL 于分液漏斗,按 2.2.3 项下操作,于波长 412 nm 处测定吸光度(A),测得回归方程为 $A = 46.634C + 0.0214$ ($r = 0.995$),表明 6 ~ 18 mg·L⁻¹ 贝母素乙质量浓度(C)和吸光度(A)呈良好线性关系。

2.2.5 方法学考察 重复性试验:平贝母地上、地下部分样品分别混合粉碎,约取 0.2 g 精密称量,按 2.2.2 项下操作,并依法测定吸光度,计算总生物碱含量,RSD 分别为 1.26%,0.39%。

精密度试验:精密量吸取贝母素乙对照品溶液 2 mL,按 2.2.3 项下操作,测定吸光度 5 次,RSD 1.92%,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品粉末精密称量,按 2.2.2 项下操作,并依法测定吸光度,每隔 15 min 测定 1 次,最后 2 h 再测 1 次,共测定 5 次。RSD 为 1.26%,表明供试品溶液在 1 h 内稳定。

2.2.6 样品测定 精密吸取样品溶液 3 mL 于分液漏斗中,按 2.2.3 项下操作测定吸光度,计算总生物碱含量及含量比,结果见表 1。

表 1 平贝母样品总生物碱含量及含量比

样品	生长期	地上部分	地下部分	含量比
		/mg·g ⁻¹	/mg·g ⁻¹	
栽培品	营养生长期	0.501 8	0.277 2	1.810
		0.464 4	0.203 1	2.287
		0.752 2	0.251 8	2.987
	花期	0.547 1	0.258 4	2.118
		0.458 5	0.176 3	2.601
		0.732 2	0.331 3	2.210
	果期	0.752 1	0.251 6	2.989
		0.489 4	0.196 5	2.491
		0.337 4	0.211 1	1.589
	野生品	0.397 2	0.188 1	2.112
		0.392 8	0.267 2	1.470
		0.479 2	0.236 3	2.028
野生品	花期	0.531 8	0.300 1	1.766
		0.301 7	0.201 3	1.499
		0.367 6	0.301 6	1.219
	果期	-	-	-
		-	-	-
		-	-	-

3 讨论

各时期平贝母地上部分的总生物碱含量均高于地下部分,且茎叶中生物碱种类及各生物碱的含量较地下鳞茎也有差别。平贝母栽培品各生长期总生物碱含量,从营养生长期到果期,地上部分与地下部

壮药“国虾薄”(绞股蓝)热处理产物中 人参皂苷 Rg₃ 的分离与鉴定

邢韶芳,陈道金,刘慧敏,朴香兰*

(中央民族大学中国少数民族传统医学研究院,北京 100081)

[摘要] 目的:分离、鉴定国虾薄(绞股蓝)热处理产物中皂苷类化合物。方法:国虾薄在温度 125 ℃、压力 0.24 MPa 的条件下,加热处理 3 h,用 80% 乙醇加热回流提取 3 h,通过大孔树脂 HP-20、硅胶柱及反相柱色谱等分离手段对其热处理产物进行分离,并用离子阱飞行时间质谱(LCMS-IT-TOF)、核磁共振波谱(NMR)等数据鉴定其成分。结果:从壮药国虾薄热处理产物中首次分离获得 20(S)-人参皂苷 Rg₃ 和 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 两种不同构型的稀有人参皂苷。结论:通过热处理的方法能从国虾薄中分离得到人参皂苷 Rg₃,这为人参皂苷 Rg₃ 的制备提供了一个新思路。

[关键词] 国虾薄(绞股蓝);热处理;人参皂苷 Rg₃
[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0120-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014090120
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfix.000049.html>
[网络出版时间] 2014-02-25 11:27

[收稿日期] 20131119(024)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274186)
[第一作者] 邢韶芳,在读硕士,从事有效成分及其分子机制研究,Tel:13261594150, E-mail:123225452@qq.com
[通讯作者] *朴香兰,博士,副研究员,博士生导师,从事天然药物化学研究,Tel:13126602088, Fax:010-68939905, E-mail: xlpiao@163.com

分总生物碱含量比逐渐下降,在平贝母野生品中结果相同。但本次实验的样本量较少,要真正了解平贝母总生物碱动态变化过程需通过加大样本量进行数理统计分析,寻找各生长部位总生物碱与生长发育期的内在关联。平贝母地下部分生物碱种类无太多变化,而栽培品果期地上部分生物碱种类要多于其他各时期的各生长部位。

[参考文献]

[1] 李兴斌,高燕飞,李吉良.平贝母化学成分及药理活性研究进展[J].中药研究与信息,2004,21(4):28.
[2] 于晓琳,季晖,王长礼,等.贝母的药理作用研究状况[J].中草药,2000,31(4):313.
[3] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:化学工业出版社,2010:90.
[4] 王艳红,吴晓民,郑友兰,等.不同产地和采收期的平贝母总生物碱含量[J].中药材,2006,29(1):8.
[5] 李萍,曾令杰,李松林.无紫外吸收的贝母总生物碱定量分析方法研究[J].中国药学杂志,2002,37(8):614.
[6] Ding K, Lin G, Ho Y P. Prederivatization and high-performance liquid chromatographic analysis of bulbous of

Fritillaria[J]. J Pharm Sci, 1996, 85(11):1174.
[7] 李松林,李萍,曾令杰.伊犁贝母中西贝素和西贝素苷的高效液相色谱-蒸发光散射检测法[J].药学学报,2001,36(4):300.
[8] Li S L, Chan S W, Li P. Pre-column derivatization and gas chromatographic determination of alkaloids in bulbous of Fritillaria[J]. J Chromatogr A, 1999, 859(2):183.
[9] 乐大勇,王琼,张隽,等.复方贝母散超微粉体、细粉的化学性质与药效学对比[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(14):69.
[10] 陈茂,刘美艳,胡翠兰. TLC 法测定翁沥通片中贝母素乙的含量[J].中国药房,2008,19(12):936.
[11] Kitajima J, Komori T, Kawasaki T, et al. Basic steroid saponins from aerial parts of Fritillaria Thunbergii [J]. Phytochemistry, 1982, 21(1):187.
[12] 王振月,侯素云,王志林,等.不同产地不同物候期平贝母的贝母乙素研究[J].中药材,2006,29(11):1135.
[13] 侯立波,陈延宝.平贝母化学成分的含量测定方法学研究进展[J].黑龙江医药,2007,20(2):158.

[责任编辑 邹晓翠]