

鲜、干马齿苋药材中生物碱类成分的含量差异

杨成俊^{1*}, 王理想², 封亮²

(1. 江苏联合职业技术学院连云港中医药分院, 江苏 连云港 222007;
2. 江苏省中医药研究院, 南京 210028)

[摘要] 目的:比较鲜、干药材中去甲肾上腺素和多巴胺的含量差异。方法:采用HPLC-UV测定马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺含量,流动相甲醇-水[70:30,含30 mmol·L⁻¹十二烷基硫酸钠和0.02 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 3.2)],流速0.8 mL·min⁻¹,检测波长280 nm。结果:HPLC中去甲肾上腺素和多巴胺的分离度很好,二者线性范围分别为52.5~157.5、64.7~194.1 mg·L⁻¹。鲜马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺质量分数分别为0.070%和0.50%,二者在干品中质量分数分别为0.015%和0.20%。结论:鲜药材中去甲肾上腺素和多巴胺含量明显高于干药材,可为马齿苋的合理使用提供实验依据。

[关键词] 马齿苋; 鲜、干药材; 去甲肾上腺素; 多巴胺

[中图分类号] R283.1;R284.1;R282.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0088-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240088

Content Difference of Total Alkaloids in Fresh and Dried Portulacae Herba

YANG Cheng-jun^{1*}, WANG Li-xiang², FENG Liang²

(1. Lianyungang Traditional Chinese Medicine Branch of Jiangsu Union Technical Institute, Lianyungang 222007, China; 2. Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To compare contents of norepinephrine and dopamine in fresh and dry Portulacae Herba. **Method:** HPLC-UV method was adopted for determination of norepinephrine and dopamine in fresh and dry Portulacae Herba. This analysis was performed on a Alltima C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), column temperature was set at 25 °C, flow rate was 0.8 mL·min⁻¹, detection wavelength was kept at 280 nm, mobile phase consisted of methanol-water (70:30, containing 30 mmol·L⁻¹ sodium dodecyl sulfate and 0.02 mol·L⁻¹ phosphate buffer with pH of 3.2). **Result:** Separation of norepinephrine and dopamine was well in HPLC, these two alkaloids showed a good linear relationship in 52.5-157.5 mg·L⁻¹ and 64.7-194.1 mg·L⁻¹, respectively. Contents of norepinephrine and dopamine in fresh Portulacae Herba were 0.070% and 0.50%; while contents of them in dry Portulacae Herba were 0.015% and 0.20%, respectively. **Conclusion:** Contents of norepinephrine and dopamine in fresh herbs are significantly higher than these in dry herbs. This paper provides experimental basis for reasonable application of Portulacae Herba.

[Key words] Portulacae Herba; fresh and dry herbs; norepinephrine; dopamine

鲜药是指药材不经过任何可能导致药材内部化学成分改变或损失的处理,采收后便直接使用的原料药^[1]。鲜药具有气味正、疗效确切、使用方便等特点,能最大限度地保留药材中活性成分而发挥独特疗效,尤其对于一些急证、表证,具有干药材不可

替代的疗效^[2]。长期以来,中药的研究大多数是针对干药材,而有关鲜药的研究常被忽视,因为鲜药存在不易保存等问题。

马齿苋又名蚂蚱菜、长命菜、马舌菜等,性味酸、寒,功效清热解毒、凉血止血,主治热痢脓血、热淋、

[收稿日期] 20140731(005)

[基金项目] 江苏省中医药领军人才项目(2006)

[通讯作者] * 杨成俊,副教授,从事中药的品种、质量与产品开发研究, Tel:15896108833, E-mail:ychjun-1998@163.com

带下、丹毒等。现代药理研究表明马齿苋具有降血脂、降血糖作用^[3]。马齿苋鲜品常用于治疗外科、皮肤科疾病,如疮疡、手足癣、湿疹等证;亦可用于治疗内科疾病,如高血压、动脉硬化、糖尿病、前列腺肥大性尿潴留等。马齿苋干药材常用于治疗肠道、皮肤、内分泌疾病。研究发现马齿苋鲜、干药材提取物对内分泌系统疾病具有明显的活性差异,但其内在原因尚不明确^[4]。马齿苋含有丰富的生物碱类成分——多巴胺和去甲肾上腺素,二者是该药材的主要生物活性成分。推测鲜、干马齿苋的药效差异可能与其物质基础相关,但尚未有相关文献报道。本实验拟通过比较马齿苋鲜、干品中多巴胺和去甲肾上腺素的含量差异,为科学使用马齿苋药材提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BP-211D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Sartorius 公司),BD-A 2000 型榨汁机(上海冰都电器有限公司),111 型高速中药粉碎机(浙江瑞安环球药械厂),Rotavapor R-220 型旋转蒸发器(瑞士步琪公司),DZF-6051 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),LYO-M2 型冷冻干燥机(上海东富龙科技有限公司)。

新鲜马齿苋药材采自南京浦口,经南京中医药大学药学院吴德康教授鉴定为马齿苋科植物马齿苋 *Portulaca oleracea* 的茎叶;去甲肾上腺素、多巴胺对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100169-201103,100070-201006),甲醇、磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

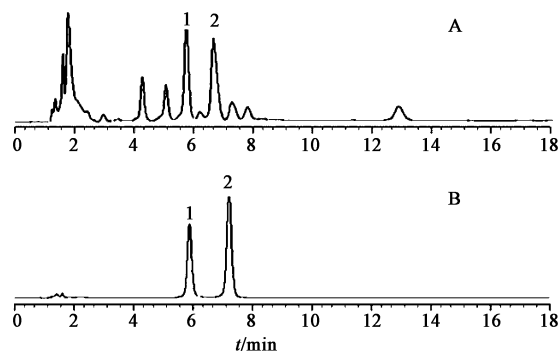
2 方法与结果

2.1 鲜马齿苋榨汁的制备 取新鲜马齿苋全草 8 kg,水洗除去药材表面泥沙,置于榨汁机中榨汁,第 1 次不加水直接榨汁;榨渣加适量水搅拌后进行第 2 次榨汁;榨渣再放至榨汁机中循环榨汁,直至药渣为较干的纤维,合并榨汁液 5 L,纱布初滤,于 3 000 r·min⁻¹ 低速离心 15 min,取部分榨汁液冷冻干燥得冻干粉(冻干粉 1 g 相当于鲜马齿苋 9.02 g),备用。

2.2 干马齿苋提取物的制备 取新鲜马齿苋 5 kg,晒干,粉碎,过 40 目筛,得干马齿苋粉末 196.37 g。称取马齿苋晒干药材粉末 5 g,加水 50 mL 煮沸搅拌 1 h,过滤,滤渣加水 400 mL 重复提取 2 次,合并 3 次提取液,旋转浓缩,真空干燥,得提取物(提取物 1 g 相当于干药材 5.56 g 或鲜药材 141.57 g)。

2.3 方法学考察

2.3.1 色谱条件^[5] Alltima C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 25 °C,流速 0.8 mL·min⁻¹,检测波长 280 nm,进样量 10 μL,流动相甲醇-水 [70:30,含 30 mmol·L⁻¹ 十二烷基硫酸钠(SDS)和 0.02 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH 3.2)],见图 1。



A. 供试品;B. 对照品;1. 去甲肾上腺素;2. 多巴胺

图 1 马齿苋榨汁液 HPLC

2.3.2 对照品溶液的配制 精密称取去甲肾上腺素和多巴胺对照品 5.25, 6.47 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中,加水溶解并定容至刻度,得储备液,备用。精密量取去甲肾上腺素和多巴胺对照品储备液各 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,加水溶解并定容,得混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的配制 取鲜马齿苋榨汁液冻干粉和干马齿苋水提液 48.47, 43.18 mg (同等生药量),加水 1 mL 超声使溶解,11 000 r·min⁻¹ 高速离心 15 min,取上清液,即得。

2.3.4 线性范围考察 精密吸取去甲肾上腺素和多巴胺对照品储备液各 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,按 2.3.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积值为纵坐标,得回归方程分别为 $Y = 42\,697X + 3.15$ ($R^2 = 0.999\,6$), $Y = 63\,517X + 2.33$ ($R^2 = 0.999\,7$), 线性范围分别为 52.5 ~ 157.5, 64.7 ~ 194.1 mg·L⁻¹。

2.3.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液适量,按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算去甲肾上腺素和多巴胺峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 0.4%, 表明仪器精密度良好。

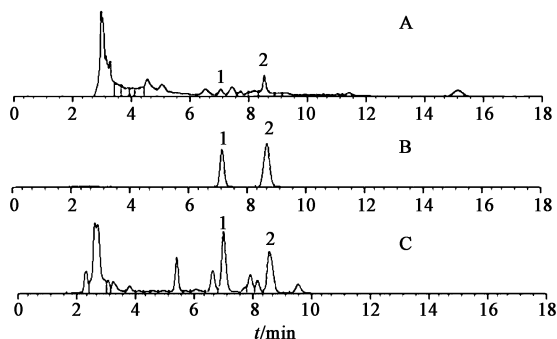
2.3.6 重复性试验 精密吸取鲜马齿苋、干马齿苋供试品溶液各 3 份,按 2.3.1 项下色谱条件测定,按外标法计算鲜马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺质量分数分别为 30.80% (RSD 1.3%) 和 12.56% (RSD 1.5%), 二者在干马齿苋中质量分数分别为

16.70% (RSD 1.2%) 和 7.38% (RSD 1.3%), 表明该方法重复性较好。

2.3.7 稳定性试验 精密吸取鲜马齿苋、干马齿苋供试品溶液适量, 分别于 0, 2, 4, 8, 10 h 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算鲜(干)马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺峰面积的 RSD 分别为 1.3% (1.2%) 和 1.1% (1.4%), 表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密量取 $0.525 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 去甲肾上腺素对照品溶液 0.15, 0.60 mL, 分别加入马齿苋干品和鲜品; 精密取 $0.647 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多巴胺对照品储备液 1.50, 3.30 mL, 分别加入马齿苋干品和鲜品。各加无水乙醇定容至 10 mL, 按 2.3.1 项下色谱条件平行测定 6 次, 计算鲜马齿苋去甲肾上腺素和干马齿苋的平均回收率分别为 104.13%, 102.66%, RSD 分别为 2.4%, 3.0%; 干马齿苋去甲肾上腺素和干马齿苋的平均回收率分别为 103.82%, 104.74%, RSD 分别为 3.1%, 3.9%。

2.3.9 样品测定 取鲜马齿苋、干马齿苋适量, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 采用外标法计算指标成分含量, 结果显示干马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺质量分数分别为 0.015% 和 0.20%, 鲜马齿苋中二者的质量分数则分别为 0.070% 和 0.50%, 说明鲜品中去甲肾上腺素和多巴胺含量远高于干品, 见图 2。



A. 水提液; B. 对照品; C. 榨汁液;
1. 去甲肾上腺素; 2. 多巴胺

图 2 鲜马齿苋榨汁液与干马齿苋水提液 HPLC 比较

3 结果与讨论

中医临床应用鲜药的历史可追溯到秦汉时期, 在我国现存最早的古医籍帛书《五十二病方》中记载“取薯蕷茎干治二升, 取薯瓜汁二斗以渍之, 以为浆, 饮之”, 治疗牝痔^[6]。山药汁是用鲜药自然汁疗法的第 1 个范例^[7]。从大量的古代本草及方书文献中发现, 许多药材以鲜品入药在治疗疑难杂病、危急

重症及解毒外治等方面确实有着优于干品的特殊效用。鲜药的物质基础是由多种化学成分组成的复合体, 各成分及含量复杂多样。鲜药在干制等加工处理过程中, 药材中所含某些特殊的不稳定成分会出现流失, 致使药效差异较大^[8-10]。

通过鲜、干马齿苋的 HPLC 图谱比较, 表明鲜品中去甲肾上腺素和多巴胺含量明显高于干品, 这两个化合物由于本身结构不稳定, 易受光和热的影响且易氧化, 而鲜药的加工过程可避免高温和氧化, 故这两个成分在鲜药材中含量明显高于干药材, 提示鲜品的治疗效果可能较干品好。

本文流动相选择的 SDS 是一种阴离子型离子对试剂, 用于含有氨基碱性化合物的分析时, 可以起到离子对的作用。其磺酸基会与去甲肾上腺素和多巴胺中氨基形成离子对, 可以降低这两种生物碱类成分的极性, 从而增大二者的保留时间, 同时还可抑制生物碱类成分氨基与色谱柱中硅羟基的配位结合, 起到扫尾的作用。

[参考文献]

- [1] 陈斌, 贾晓斌. 鲜药物质基础的研究进展与研究策略[J]. 中草药, 2012, 43(3): 592.
- [2] 李培海. 浅论中药材的鲜用和陈用[J]. 河南中医药学刊, 2000, 15(5): 16.
- [3] 沈岚, 陆付耳. 马齿苋对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(4): 293.
- [4] 陈楚涛, 张磊, 林壮森, 等. 马齿苋茎部提取物对双酚 A 的降解效应研究[J]. 广东化工, 2010, 37(5): 63.
- [5] Chen J, Shi Y P, Liu J Y. Determination of noradrenaline and dopamine in Chinese herbal extracts from *Portulaca oleracea* L. by high performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2003, 1003(1/2): 127.
- [6] 郝近大. 鲜药的研究与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 49.
- [7] 翁前锋, 袁凯龙, 张宏颖, 等. 胶束电动毛细管色谱安培检测中药马齿苋中多巴胺和去甲肾上腺素[J]. 色谱, 2005, 23(1): 18.
- [8] 彭国平, 饶力群, 唐晓春. 鲜药现代研究的主要方向探讨[J]. 湖南中医药导报, 2014, 10(1): 39.
- [9] 张明华, 封亮, 胡绍英, 等. 药材道地性的物质基础本质: 组分结构的独特性[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 136.
- [10] 封亮, 张明华, 顾俊菲, 等. 方药物质基础“组分结构”理论的创新与实践[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21): 51.

[责任编辑 刘德文]