

HPLC同时测定续断中7种成分的含量

马蕙文^{1,2}, 易红², 李春², 张东², 田莲超², 李云², 刘晓谦^{2*}, 王智民^{1,2*}

(1. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006;

2. 中国中医科学院 中药研究所 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700)

[摘要] **目的:**建立 HPLC 同时测定续断中 7 种成分(当药苷, 马钱苷, 马钱苷酸, 绿原酸, 川续断皂苷 VI, 续断苷 A 和续断苷 B)含量的方法, 为全面评价和控制续断的质量提供科学依据。**方法:**采用 HPLC 测定, 色谱条件为 Venusil HILIC 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~20 min, 95% A; 20~40 min, 95%~87% A; 40~64 min, 87%~84% A; 64~65 min, 84%~78% A; 65~80 min, 78%~77% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL, 检测波长 235 nm 和 212 nm。**结果:**7 种成分的分离度良好且在各自浓度范围内与峰面积呈良好线性关系($r \geq 0.9999$), 平均回收率在 99.11%~102.24%, RSD 均 < 2.0%。13 批续断样品中川续断皂苷 VI 的含量均符合 2015 年版《中国药典》规定, 但各样本中 7 种待测成分含量差异较大。绿原酸含量与川续断皂苷 VI 含量呈明显正相关, 而总环烯醚萜与绿原酸、川续断皂苷 VI 无明显相关性。**结论:**所建立的方法简便、准确、重复性良好, 可用于续断药材的多成分同步测定, 为该药材的质量控制提供参考。

[关键词] 续断; 环烯醚萜类; 绿原酸; 川续断皂苷 VI; 相关性分析; 饮片; 当药苷

[中图分类号] R22; R289; R282; R284; C8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0055-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180607

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171226.1423.028.html>

[网络出版时间] 2017-12-27 13:50

Simultaneous Determination of Seven Components in Dipsaci Radix by HPLC

MA Hui-wen^{1,2}, YI Hong², LI Chun², ZHANG Dong², TIAN Lian-chao², LI Yun²,
LIU Xiao-qian^{2*}, WANG Zhi-min^{1,2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method for simultaneous determination of seven components (chiratin, loganin, loganic acid, chlorogenic acid, asperosaponin VI, dipsanoside A and dipsanoside B) in Dipsaci Radix, so as to provide scientific basis for the comprehensive quality evaluation and control of Dipsaci Radix. **Method:** Samples were analyzed on a Venusil HILIC column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), and eluted with the mobile phase of acetonitrile (A) and 0.1% phosphoric acid (B) with a linear gradient mode (0-20 min, 95% A; 20-40 min, 95%-87% A; 40-64 min, 87%-84% A; 64-65 min, 84%-78% A; 65-80 min, 78%-77% A), the flow rate of the mobile phase was 1.0 mL·min⁻¹ with the column temperature of 30 ℃, and the detection wavelengths were set at 235 nm and 212 nm, respectively. **Result:** These seven components were well separated and showed good linearity ($r \geq 0.9999$) within the concentration ranges tested, the mean

[收稿日期] 20170814(003)

[基金项目] 国家公益性行业科研专项(201507002); 国家中药标准化项目(ZYBZH-C-CQ-62, ZYBZH-C-JIN-43, ZYBZH-C-GD-07)

[第一作者] 马蕙文, 在读硕士, 从事中药质量控制研究, E-mail: 837561297@qq.com

[通信作者] * 刘晓谦, 副研究员, 从事中药制剂与质量控制研究, Tel/Fax: 010-84017310, E-mail: lianyu1127@126.com;

* 王智民, 研究员, 从事中药药效物质基础及质量评价研究, E-mail: zhml23@263.net

recoveries were 99.11% -102.24% with the RSD between 0.2% -1.5%. The content of asperosaponin VI in 13 samples conformed to standard in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, but the content of the seven components in each sample showed a great differences. **Conclusion:** The method is simple, accurate and repeatable, it can be used for the determination of multiple components in *Dipsaci Radix*.

[**Key words**] *Dipsaci Radix*; iridoids; chlorogenic acid; asperosaponin VI; correlation analysis; decoction pieces; chitin

续断因具有续折接骨的功效而得名,分布于湖北、湖南、江西等省区,多生于沟边、草丛、林缘和田野路旁^[1],具有补肝肾、行血脉、续筋骨、安胎止漏的功效,是伤科与妇科的常用中药^[2]。续断临床常用饮片有续断片、酒续断、盐续断等。根据中医理论,续断生品以补肝肾、通血脉为主;酒炙后能增强通血脉、强筋骨作用;盐炙后能引药下行,增强补肾强腰作用^[3]。

现代药理学证明,川续断具有抗骨质疏松、促进骨伤愈合、抗炎、抗衰老等药理作用,具有较大的研究与开发价值^[4]。对续断化学成分的研究始于 1970 年代,续断中化学成分较为复杂多样,主要含有三萜皂苷类、环烯醚萜类、酚酸类等^[5]。目前对于续断的质量控制主要以川续断皂苷 VI 的含量为评价指标^[6-8]。张芬等^[9]测定了续断中马钱苷酸、马钱苷和当药苷的含量。刘京晶等^[10]采用 HILIC-HPLC 测定了续断中 3 种皂苷类成分的含量。但目前已有文献多侧重于测定续断中同类成分的含量,同时测定多类成分的方法尚未见报道。本实验拟建立 HPLC 同时测定续断药材中环烯醚萜苷类、酚酸类和皂苷类共 3 类成分含量的分析方法,并对续断药材的质量进行了分析与全面评价,可为该药材质量控制体系的建立提供科学依据。

1 材料

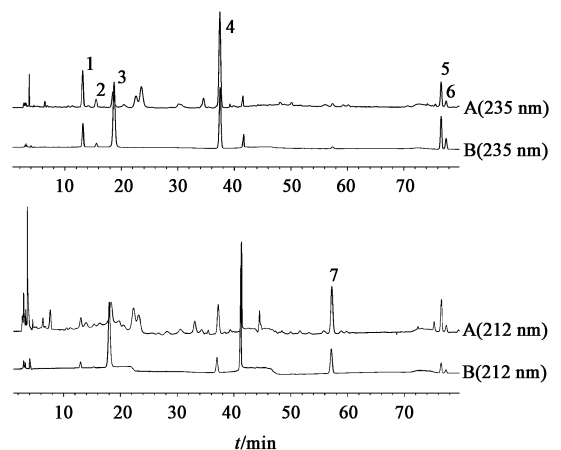
BT 125D 型 1/10 万电子天平和 BSA224S-CW 型 1/1 万电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],LC20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司,包括 LC-20AT 型溶液传输单元,SIL-20 A 型自动进样器,SPD-M20 A 型二极管阵列检测器和 LC Solution 色谱工作站),DET-50 型高速万能粉碎机(温岭市大德中药机械有限公司)。

实验用续断药材(饮片)13 批,于 2017 年收集,经中国中医科学院中药研究所王智民研究员鉴定为川续断科植物川续断 *Dipsacus asper* 的干燥根;川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 和马钱苷酸对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号分别为 C-014-160323, X-071-160921, X-072-160921, X-071-

160921,纯度分别为 > 98%, > 96%, > 93%, > 98%);马钱苷、当药苷、绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111640-201005,111742-200501,110753-200212,纯度依次为 $\geq 99.22\%$, $\geq 98\%$, $\geq 98\%$),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Venusil HILIC 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 20 min, 95% A; 20 ~ 40 min, 95% ~ 87% A; 40 ~ 64 min, 87% ~ 84% A; 64 ~ 65 min, 84% ~ 78% A; 65 ~ 80 min, 78% ~ 77% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,进样量 10 μL ,检测波长 235 nm 和 212 nm。在上述色谱条件下,样品中当药苷,马钱苷,绿原酸,马钱苷酸,川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 色谱峰的保留时间与对照品一致,7 个成分的色谱峰能达到较好的分离,且纯度检查符合要求。样品中其他成分对待测成分的测定无干扰。见图 1。



A. 供试品; B. 对照品; 1. 当药苷; 2. 马钱苷; 3. 绿原酸; 4. 马钱苷酸; 5. 续断苷 A; 6. 续断苷 B; 7. 川续断皂苷 VI

图 1 续断样品在不同检测波长下的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Dipsaci Radix* at different wavelengths

2.2 对照品溶液的制备 分别称取当药苷,续断苷 B,马钱苷,续断苷 A,绿原酸,马钱苷酸对照品适量,

加甲醇溶解并定容,得质量浓度分别为 0.74, 0.368, 0.123, 0.840, 2.93, 2.36 g·L⁻¹ 的对照品储备液。精密称定川续断皂苷 VI 对照品 11.15 mg 于 10 mL 量瓶中,分别精密加入上述 6 种对照品储备液 1 mL,加甲醇定容至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取续断药材粉末(80 目,下同)约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 乙醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,称质量,用 75% 乙醇补足减失质量,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液 0.5, 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL 注入高效液相色谱仪,按 2.1 项下色谱条件测定。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程及相关系数,见表 1。结果表明 7 个成分在一定质量浓度内与峰面积呈较好的线性关系。

表 1 续断中 7 种指标成分的线性关系考察

Table 1 Linear relationship of seven chemical components in *Dipsaci Radix*

成分	回归方程	r	线性范围/ng
当药苷	$Y = 1.375.3X - 227.24$	0.999 9	37.00 ~ 1 480
马钱苷	$Y = 1.592.1X + 706.11$	0.999 9	6.15 ~ 246
绿原酸	$Y = 1.526X - 1.963.2$	1.000 0	146.50 ~ 5 860
马钱苷酸	$Y = 1.477.6X - 6.014.7$	1.000 0	118.00 ~ 4 720
川续断皂苷 VI	$Y = 192.55X - 3.676.2$	1.000 0	557.50 ~ 22 300
续断苷 A	$Y = 1.807.9X - 8.879.6$	0.999 9	42.00 ~ 1 680
续断苷 B	$Y = 1.390.7X - 1.413.3$	1.000 0	18.40 ~ 736

2.5 精密度试验 取同一份混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果当药苷,马钱苷,绿原酸,马钱苷酸,川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 1.4%, 1.6%, 1.1%, 1.7%, 1.3% 和 1.1%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一份续断供试品溶液,分别于制备后的 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样,按 2.1 项下色谱条件测定,结果当药苷,马钱苷,绿原酸,马钱苷酸,川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 峰面积的 RSD 分别为 1.0%, 1.8%, 1.2%, 0.3%, 1.2%, 1.0% 和 0.2%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 称取同一批次的续断样品(云

南药材 4) 粉末约 0.2 g,共 6 份,精密称定,按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,结果当药苷,马钱苷,绿原酸,马钱苷酸,川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 平均质量分数分别为 0.21%, 0.05%, 0.15%, 0.61%, 2.82%, 0.36%, 0.10%; RSD 分别为 0.2%, 0.9%, 1.6%, 1.6%, 0.6%, 2.0% 和 0.7%。

2.8 加样回收试验 取已知指标成分含量的续断药材粉末约 0.10 g,精密称定,平行 6 份,分别加入一定量的混合对照品溶液,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,结果当药苷,马钱苷,绿原酸,马钱苷酸,川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 的加样回收率平均值在 99.11% ~ 102.24%, RSD 均 < 2.0%。表明该方法的准确度良好。见表 2。

表 2 续断中 7 种指标成分的加样回收试验

Table 2 Recovery test of seven constituents in *Dipsaci Radix*

成分	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
当药苷	0.100 2	0.215 4	0.218 0	0.431 4	99.08	99.30	0.2
	0.100 6	0.216 3	0.218 0	0.433 4	99.59		
	0.100 5	0.216 0	0.218 0	0.432 4	99.27		
	0.100 4	0.215 8	0.218 0	0.432 8	99.54		
	0.100 5	0.216 0	0.218 0	0.432 5	99.31		
	0.100 6	0.216 3	0.218 0	0.432 2	99.04		
马钱苷	0.100 2	0.048 0	0.050 8	0.097 3	97.05	99.11	1.2
	0.100 6	0.048 2	0.050 8	0.099 0	100.00		
	0.100 5	0.048 2	0.050 8	0.098 5	99.02		
	0.100 4	0.048 1	0.050 8	0.099 1	100.39		
	0.100 5	0.048 2	0.050 8	0.098 8	99.61		
	0.100 6	0.048 2	0.050 8	0.098 3	98.62		
绿原酸	0.100 2	0.149 0	0.151 0	0.303 7	102.45	102.24	0.4
	0.100 6	0.149 6	0.151 0	0.304 2	102.38		
	0.100 5	0.149 4	0.151 0	0.303 5	102.05		
	0.100 4	0.149 3	0.151 0	0.302 9	101.72		
	0.100 5	0.149 4	0.151 0	0.303 4	101.99		
	0.100 6	0.149 6	0.151 0	0.304 9	102.85		
马钱苷酸	0.100 2	0.609 4	0.609 0	1.206 3	98.01	99.86	1.0
	0.100 6	0.611 8	0.609 0	1.217 3	99.43		
	0.100 5	0.611 2	0.609 0	1.223 1	100.48		
	0.100 4	0.610 6	0.609 0	1.223 0	100.56		
	0.100 5	0.611 2	0.609 0	1.222 8	100.43		
	0.100 6	0.611 8	0.609 0	1.222 3	100.25		

续表 2

成分	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
续断苷 A	0.100 2	0.361 3	0.375 0	0.725 3	97.07	99.39	1.5
	0.100 6	0.362 7	0.375 0	0.735 2	99.33		
	0.100 5	0.362 3	0.375 0	0.740 2	100.77		
	0.100 4	0.362 0	0.375 0	0.741 3	101.15		
	0.100 5	0.362 3	0.375 0	0.733 5	98.99		
	0.100 6	0.362 7	0.375 0	0.734 1	99.04		
续断苷 B	0.100 2	0.098 6	0.109 0	0.205 8	98.35	99.40	0.8
	0.100 6	0.099 0	0.109 0	0.206 3	98.44		
	0.100 5	0.098 9	0.109 0	0.207 8	99.91		
	0.100 4	0.098 8	0.109 0	0.208 0	100.18		
	0.100 5	0.098 9	0.109 0	0.207 8	99.91		
	0.100 6	0.099 0	0.109 0	0.207 6	99.63		
川续断 皂苷 VI	0.100 2	2.825 6	2.829 0	5.647 3	99.74	100.17	0.3
	0.100 6	2.836 9	2.829 0	5.667 4	100.05		
	0.100 5	2.834 1	2.829 0	5.671 3	100.29		
	0.100 4	2.831 3	2.829 0	5.674 8	100.51		
	0.100 5	2.834 1	2.829 0	5.675 6	100.44		
	0.100 6	2.836 9	2.829 0	5.665 7	99.99		

2.9 样品测定 取各续断药材(饮片)粉末,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,每个样品平行 3 份,按 2.1 项下色谱条件测定,结果见表 3。

2.10 数据分析 由表 3 可知,13 批续断样品中 7 批药材的川续断皂苷 VI 质量分数处于 24.59 ~ 142.90 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,6 批续断饮片中川续断皂苷 VI 质量分数在 17.71 ~ 77.49 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,表明以上 13 批样品均符合 2015 年版《中国药典》(一部)对于续断药材含川续断皂苷 VI 不得少于 2.0%,续断饮片含川续断皂苷 VI 不得少于 1.5% 的要求。但不同批次样品间川续断皂苷 VI 含量差异较大。从 13 批续断样品含量测定结果可知,不同批次样品中绿原酸含量差异较大,7 批药材除贵州样品 1 绿原酸含量较低外,剩余 6 批药材绿原酸质量分数在 7.25 ~ 24.12 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,6 批续断饮片绿原酸质量分数在 1.47 ~ 6.14 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,饮片中绿原酸含量总体低于药材。5 种环烯醚萜苷中马钱苷酸质量分数最高,范围处于 5.96 ~ 20.07 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;当药苷及续断苷 A 次之,分别处于 1.69 ~ 5.82 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 1.83 ~ 6.17 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;马钱苷和续断苷 B 含量稍低,二者的质量分数分别处于 0.43 ~ 2.27 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 0.57 ~ 1.85 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。对各成分间的相关性进行分析,结果见表 4。

表 3 各续断样品中 7 种成分的含量测定

Table 3 Contents of seven constituents in 13 batches of Dipsaci Radix samples								$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
产地	样品	当药苷	马钱苷	绿原酸	马钱苷酸	续断苷 A	续断苷 B	川续断皂苷 VI
四川	1(饮片)	3.65	0.87	6.14	11.10	3.67	1.35	70.82
	2(药材)	1.93	2.27	7.25	11.86	1.83	0.61	100.82
	3(饮片)	4.03	0.89	4.45	14.27	3.44	1.14	17.71
	4(饮片)	4.07	0.95	4.84	14.06	2.72	0.91	66.22
	5(饮片)	3.58	1.77	3.24	18.93	3.43	0.91	50.70
云南	1(药材)	4.53	1.15	11.79	19.91	4.12	1.42	62.06
	2(药材)	2.33	0.57	8.58	7.86	6.17	1.85	66.40
	3(饮片)	4.60	1.08	2.93	13.85	2.45	0.76	77.49
	4(饮片)	2.22	0.48	1.47	5.96	3.65	1.02	27.83
	5(药材)	2.58	1.44	16.65	13.78	2.90	0.82	142.90
	6(药材)	1.73	2.14	20.02	20.07	2.96	0.59	132.16
贵州	1(药材)	5.82	0.43	4.87	13.24	4.95	1.60	24.59
	2(药材)	1.69	1.86	24.12	15.41	2.81	0.57	127.78

由表 4 可知,马钱苷与川续断皂苷 VI,马钱苷酸含量呈明显正相关,绿原酸含量也与川续断皂苷 VI 含量呈明显正相关,续断苷 A 与续断苷 B 呈明显正相关。续断苷 B 与川续断皂苷 VI,马钱苷呈明显负相

关,续断苷 A 也与马钱苷呈明显负相关。将马钱苷,马钱苷酸,续断苷 A,续断苷 B 及当药苷之和按总环烯醚萜类计,分析总环烯醚萜、绿原酸及川续断皂苷 VI 之间的相关性,见表 5。结果发现绿原酸含量与

表 4 续断中各成分间的 Spearman 相关性分析 ($n = 13$)

Table 4 Spearman correlation analysis among seven components in *Dipsaci Radix* ($n = 13$)

成分	相关性	当药苷	川续断皂苷 VI	马钱苷	绿原酸	马钱苷酸	续断苷 A	续断苷 B
当药苷	相关系数	1.000	-0.533	-0.516	-0.473	0.022	0.247	0.553
	<i>P</i>	-	0.061	0.071	0.103	0.943	0.415	0.050
川续断皂苷 VI	相关系数	-0.533	1.000	0.659	0.665	0.121	-0.533	-0.677
	<i>P</i>	0.061	-	0.014	0.013	0.694	0.061	0.011
马钱苷	相关系数	-0.516	0.659	1.000	0.495	0.593	-0.681	-0.803
	<i>P</i>	0.071	0.014	-	0.086	0.033	0.010	0.001
绿原酸	相关系数	-0.473	0.665	0.495	1.000	0.330	0	-0.264
	<i>P</i>	0.103	0.013	0.086	-	0.271	1.000	0.383
马钱苷酸	相关系数	0.022	0.121	0.593	0.330	1.000	-0.225	-0.388
	<i>P</i>	0.943	0.694	0.033	0.271	-	0.459	0.190
续断苷 A	相关系数	0.247	-0.533	-0.681	0	-0.225	1.000	0.869
	<i>P</i>	0.415	0.061	0.010	1.000	0.459	-	0
续断苷 B	相关系数	0.553	-0.677	-0.803	-0.264	-0.388	0.869	1.000
	<i>P</i>	0.050	0.011	0.001	0.383	0.190	0	-

川续断皂苷 VI 含量呈明显正相关,而总环烯醚萜与绿原酸、川续断皂苷 VI 无明显相关性。鉴于上述各类成分间无明显相关性,因此对续断中多种成分进行同步测定可以更加全面地反映续断的内在质量。

表 5 续断中三类成分间的 Spearman 相关性分析 ($n = 13$)

Table 5 Spearman correlation analysis among three kinds of components in *Dipsaci Radix* ($n = 13$)

成分	相关性分析	环烯醚萜类	川续断皂苷 VI	绿原酸
总环烯醚萜	相关系数	1.000	-0.231	0.071
	<i>P</i>	-	0.448	0.817
川续断皂苷 VI	相关系数	-0.231	1.000	0.665
	<i>P</i>	0.448	-	0.013
绿原酸	相关系数	0.071	0.665	1.000
	<i>P</i>	0.817	0.013	-

3 讨论

本研究建立了 HPLC 同步测定续断中当药苷,马钱苷酸,绿原酸,川续断皂苷 VI,续断苷 A,续断苷 B 和马钱苷共 7 个成分含量的方法,并对各类成分间的相关性进行分析,结果表明仅测定续断中川续断皂苷 VI 的含量无法全面反映其内在质量。四川、云南、贵州 3 个产地 13 批续断样品测定的结果表明,虽然所收集的 13 份样本中川续断皂苷 VI 含量均符合 2015 年版《中国药典》的要求,但该成分的含量波动较大,通过对 7 个成分的同时测定,表明各样

本间差异较大,但由于本实验的样品数量有限,还有待进一步研究确认。

预试验对供试品溶液的制备方法进行了优选,分别考察了回流法、超声法 2 种提取方式对待测成分的提取效果。结果表明 2 种提取方法对待测成分的提取效果无显著性差异,超声法提取简便易行,故选择超声提取。对提取溶剂亦进行了考察,比较了甲醇,75% 甲醇,50% 甲醇,无水乙醇,75% 乙醇,50% 乙醇共 6 种溶剂的提取效率,结果表明 75% 乙醇为提取溶剂时续断中 7 个成分提取效率均较高。此外,还考察了超声时间(20,30,40 min),结果显示超声提取 30 min 时,目标成分基本提取完全。

由于本文所涉及各类成分结构差异加大,极性也不尽相同,故对不同填料的色谱柱进行了优选,考察了 3 种色谱柱(Kromasil 100-5 C₁₈, Luna NH₂, Venusil HILIC)对各待测成分的分离效能,结果显示 Venusil HILIC 色谱柱可以获得平稳的基线,且各待测成分的峰形较好、分离度较大,故选择该柱作为分离柱。采用二极管阵列检测器分别对 7 个待测成分在 190~400 nm 进行紫外吸收全波长扫描。结果显示马钱苷,马钱苷酸,续断苷 A,续断苷 B 的紫外最大吸收波长均为 235 nm,当药苷最大吸收波长为 241 nm,绿原酸紫外最大吸收波长为 327 nm,川续断皂苷 VI 紫外最大吸收波长为 212 nm。为了兼顾续断中 7 个成分的最大吸收并具备良好的基线,最终检测波长确定川续断皂苷 VI 为 212 nm,其他 6 个

成分均在 235 nm 处检测。

川续断药材具有抗骨质疏松、促进骨伤愈合、抗炎和抗衰老等药理作用,皂苷类成分作为目前质控的主要成分,其在神经保护、心肌保护、预防骨质疏松、抗细胞凋亡及镇痛等方面的药理活性已经获得广泛的认可^[11-13]。绿原酸具有抗菌、抗病毒、抗氧化、清除自由基、抗衰老、抑制突变和抗肿瘤等作用^[14],与续断的药理活性密切相关。而续断中环烯醚萜类化合物的活性虽未见报导,但环烯醚萜类成分在保肝利胆、降血脂、降血糖、抗癌、抗病毒、抗炎镇痛、抗氧化等方面表现出了较好的药理作用^[15],因此也应对续断中的上述成分进行关注。结合本文中对各类成分间的相关性分析,综合考虑,需加强对续断中上述不同类型化合物的全面质量控制。

[参考文献]

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 73卷[M]. 北京:北京科学出版社,1986:44-45.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:329-330.
[3] 叶定江. 中药炮制学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996:152.
[4] ZHAO Y M, SHI Y P. Phytochemicals and biological activities of *Dipsacus* species[J]. Chem Biodivers, 2011, 8(3):414-430.
[5] TIAN X Y, WANG Y H, LIU H Y, et al. On the chemical constituents of *Dipsacus asper* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2007, 55(12):1677-1681.

[6] 朱海琳,程宁波,孟兆青,等. 正交试验优选续断的水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17): 31-33.
[7] 吴春蕾,焦涛,张志锋. RP-HPLC法测定续断药材中的川续断皂苷VI[J]. 西南民族大学学报:自然科学版, 2010, 36(5):784-786.
[8] 杜伟锋,丛晓东,蔡宝昌. HPLC-ESI/MS法测定续断“发汗”前后绿原酸和川续断皂苷VI的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(1):112-115.
[9] 张芬,黄文华,孙欣光,等. HPLC测定续断中马钱苷酸、马钱苷和当药苷的量[J]. 中草药, 2015, 46(17): 2632-2634.
[10] 刘京晶,郭宝林,黄文华,等. HILIC-HPLC测续断药材中多种皂苷含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(17):2367-2371.
[11] 樊媛洁,翟永松,王满元. 不同炮制方法对续断饮片中川续断皂苷VI, X含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17):22-24.
[12] 杨延平,杨勇. 续断抗骨质疏松活性部位的筛选[J]. 今日药学, 2012, 22(6):342-344.
[13] 刘星,李啸红,陈阳,等. 续断水提液对小鼠急性毒性和遗传毒性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(5):160-165.
[14] 严永旺,肖兰,周旭,等. 绿原酸的药理作用及药用研发对策[J]. 中国药房, 2017, 28(19):2729-2732.
[15] 马丽娜,田成旺,张铁军,等. 獐牙菜属植物中环烯醚萜类成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(5):790-795.

[责任编辑 刘德文]