

HPLC 测定不同产地山药中腺苷含量

李军^{1*}, 岳易恒¹, 张丽萍¹, 郑园苗¹, 郭海泉², 张小凤², 白雁¹

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 河南省武陟县永盛药材加工厂, 河南焦作 454981)

[摘要] 目的:分析不同产地的山药中腺苷的含量,为山药质量标准的建立提供参考。方法:采用高效液相色谱法, SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);磷酸盐缓冲液(pH 6.5)-甲醇(85:15)为流动相,流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 260 nm。结果:10 批不同产地山药中腺苷含量介于 0.035 9~0.104 0 mg·g⁻¹。结论:该方法操作简便,结果稳定可靠,可用于山药的质量评价。

[关键词] 高效液相色谱;山药;腺苷含量

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0055-03

Determination of Adenosine in *Dioscorea opposita* from Different Cultivation Areas by HPLC

LI Jun^{1*}, YUE Yi-heng¹, ZHANG Li-ping¹, ZHENG Yuan-miao¹, GUO Hai-quan², ZHANG Xiao-feng², BAI Yan¹

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Yongsheng Medicinal Material Processing Company of Wuzhi County Henan Province, Jiaozuo 454981, China)

[Abstract] **Objective:** To determine content of adenosine in *Dioscorea opposita* from the various cultivation areas. **Method:** A SunFire C₁₈ Colum (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used with Methanol- phosphate buffer(15: 85) as the mobile phase. The detective wavelength was set at 260 nm and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** Ten batches of the samples were analyzed. The content of adenosine ranged from 0.035 9-0.104 0 mg·g⁻¹. **Conclusion:** The method was simple, reproducible and reliable. It can be used to control the quality of *D. opposita*.

[Key words] HPLC; *Dioscorea opposita* Thunb; adenosine

[收稿日期] 20110527(014)

[基金项目] 河南省重大公益科研项目(081100912500)

[通讯作者] *李军, Tel: 0371-65680518, E-mail: lijun8828@126.com

山药为薯蓣科植物薯蓣的干燥块茎,始载于《神农本草经》,列为上品。山药药性平和,既补气又养阴,上能养肺、中能补脾、下能益肾,补而不滞、滋而不腻、温而不燥。具有益气养阴,补脾肺肾,固精止带的功效^[1]。山药中含有淀粉、蛋白质、游离氨基酸

[参考文献]

- [1] 丁润芳,李正翔. 灯盏花素制剂的临床应用[J]. 天津药学,2009,21(2):60.
- [2] 方睿,杜树山. 灯盏花素制剂研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):233.
- [3] 赖宝林,王利胜,张升,等. 中药凝胶剂的研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(2):211.

- [4] 中国药典.一部[S]. 2010:387.
- [5] 刘丹. 复方血竭凝胶制备工艺及质量分析研究[D]. 武汉:湖北中医学院,2009:35.
- [6] 洪清,袁曦,陈庆伟,等. 地冰凝胶的制备与质量控制[J]. 中国药房,2005,16(1):32.
- [7] 卢文芸,邹豪,蒋雪涛. 氟康唑粘附凝胶的研制[J]. 中国药房,2003,14(10):597.

[责任编辑 蔡仲德]

等营养成分以及多糖、尿囊素等多种活性成分^[2-3]。从山药中提取分离出了腺苷(adenosine)等多种化合物^[4]。现代研究表明,腺苷具有明显的药理作用,如改善心脑血管血液循环、防止心律失常、抑制神经递质释放和调节腺苷酸环化酶活性等^[5-8]。本实验拟采用高效液相色谱法测定不同产地山药中腺苷含量,为其质量评价提供参考依据。

1 仪器与试剂

Waters 600 高效液相色谱仪(在线脱气机, Waters 2487 检测器, Waters 色谱工作站。AE240 型电子天平(瑞士 Mettler 公司),腺苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110879-200202),甲醇为色谱纯;SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂);其余试剂均为分析纯。山药药材样品 10 批,分别来自河南、山东、河北、山西、广西,经河南中医药大学中药标本馆刘若庸教授鉴定均为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以磷酸盐缓冲液(pH 6.5)[取 0.01 mol·L⁻¹磷酸二氢钠溶液 68.5 mL 与 0.01 mol·L⁻¹磷酸氢二钠溶液 31.5 mL 混合(pH 6.5)]-甲醇(85:15)为流动相,流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 260 nm;柱温 25 °C;进样量 3 μL;理论板数按腺苷峰计算应不低于 3 000。对照品及样品 HPLC 见图 1。

品适量,加色谱甲醇配制成每 1 mL 含腺苷 0.15 mg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 3 号筛)约 2 g 精密称定,置圆底烧瓶中,精密加入 80% 乙醇 30 mL,称重,置 85 °C 水浴回流提取 3 h,取出,放冷至室温,称重,补足失去的溶媒,摇匀,过滤。重复提取 3 次,合并滤液,减压回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解转移至 5 mL 量瓶,定容至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密吸取腺苷对照品贮备溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL 分别置于 1 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,共得 5 个不同浓度的对照品溶液,各进样 3 μL,测定各组峰面积。以各组浓度为横坐标(X),相应峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 7\,334.7X + 66\,002$ ($r = 0.999\,7$),腺苷在 0.045 0 ~ 0.225 0 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 3 μL,按上述色谱条件连续进样 6 次,测定腺苷峰面积值,其 RSD 0.69%,表明仪器精密度良好。

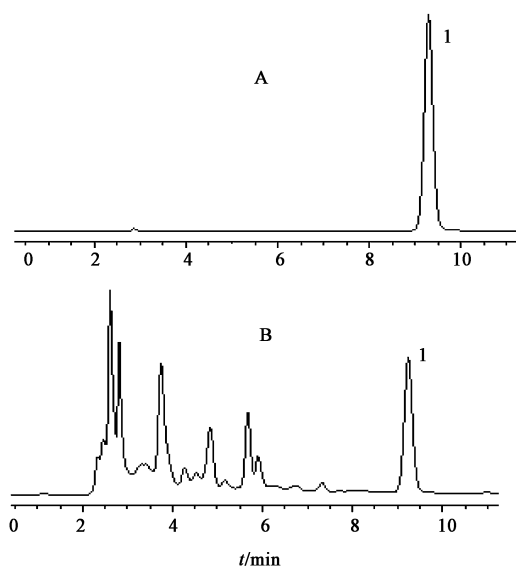
2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,室温放置,分别在 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 进样 6 次,测定腺苷峰面积值,其 RSD 1.81%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一供试品粉末(河南温县东平村),按上述供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液,分别进行测定,测得腺苷平均含量为 0.099 4 mg·g⁻¹, RSD 1.75% ($n = 6$),表明本试验方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取重复性试验项下的山药样品粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,按高、中、低 3 种浓度分别加入腺苷对照品溶液,按 2.3 项下供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,分别进行测定,计算回收率。结果平均加样回收率为 99.24%, RSD 2.53%,见表 1。

表 1 山药中腺苷加样回收率($n = 6$)

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.000 8	0.099 5	0.080 0	0.1775	97.50		
0.999 3	0.099 3	0.080 0	0.1743	96.25		
0.998 2	0.099 2	0.100 0	0.1742	98.00		
1.000 6	0.099 5	0.100 0	0.1726	99.50	99.24	2.53
0.999 9	0.099 3	0.120 0	0.1829	103.00		
0.999 9	0.099 3	0.120 0	0.1807	101.17		



A. 对照品; B. 山药样品; 1. 腺苷

图 1 腺苷对照品及山药样品 HPLC

2.2 对照品贮备溶液的制备 精密称取腺苷对照

2.9 样品测定 取不同产地山药样品粉末各 3 份,精密称定,按照供试品溶液制备方法制备供试品溶液,测定峰面积,按外标一点法计算含量。不同产地山药药材中腺苷含量测定结果见表 2。

表 2 不同产地山药药材中腺苷质量分数 ($n=3$)

No.	样品来源	采集日期	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%
1	河南温县东平村	2010-04	0.104 0	0.96
2	河南温县南平村	2010-04	0.074 1	2.81
3	河南武陟县赵庄	2010-04	0.035 9	0.86
4	河南武陟县老崔庄	2010-04	0.088 3	2.60
5	河南郑州仲景大药房	2010-10	0.078 5	2.89
6	河南郑州仟喜堂药房	2010-04	0.101 1	1.75
7	山东菏泽市牡丹区	2011-03	0.059 0	3.40
8	河北蠡县	2011-03	0.065 5	1.66
9	山西平遥县	2010-04	0.071 5	3.21
10	广西	2010-10	0.040 3	0.96

3 讨论

依次选用 50%、65%、80%、95% 乙醇为提取溶剂进行考察,结果用 80% 乙醇提取效果最佳,故选定 80% 乙醇为提取溶剂。对超声、加热回流、索氏提取 3 种提取方法进行了考察,发现用加热回流提取效率最高,对回流次数和回流时间进行了考察,结果表明回流提取 3 次,每次 3 h 提取率最高。考察了不同比例的乙腈-水、甲醇-水及甲醇-磷酸盐缓冲液为流动相,结果以磷酸盐缓冲液 (pH 6.5)-甲醇

(85:15) 为流动相所得到的色谱图效果最佳。

结果表明,10 个不同产地山药药材中腺苷含量差别较大,最高为 0.104 0 mg·g⁻¹ (河南温县东平村),最低为 0.035 9 mg·g⁻¹ (河南武陟县赵庄)。河南同一产区山药药材中腺苷含量差异较大的原因,是否与同一产区的山药一种是在黏土地中种植,另一种是沙土地中种植有关,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 高学敏. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007:430.
- [2] 倪少云, 宋学华. 山药的营养成分分析 [J]. 江苏药学与临床研究, 2002, 10(2):26.
- [3] 阚建全, 王雅茜, 陈宗道, 等. 山药活性多糖抗突变作用的体外实验研究 [J]. 营养学报, 2001, 23(1):76.
- [4] 白冰, 刘绣华, 王勇, 等. 怀山药化学成分研究 (II) [J]. 化学研究, 2008, 19(3):67.
- [5] 郝宇华, 高春霖. 腺苷对缺血心肌的保护作用 [J]. 医学综述, 2008, 14(5):769.
- [6] 臧伟进, 孙蕾, 于晓江. 腺苷和乙酰胆碱后适应诱导的心肌保护作用 [J]. 生理学报, 2007, 59(5):593.
- [7] ZANG W J, SUN L, YU X J. Cardioprotection of ischemic postconditioning and pharmacological post-treatment with adenosine or acetylcholine [J]. Acta Physiologica Sinica, 2007, 59(5):593.
- [8] 赵京林, 杨跃进. 腺苷与心脏保护的研究进展 [J]. 中国心血管病研究杂志, 2004, 2(8):658.

[责任编辑 蔡仲德]

欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、消息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,304 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com。