

隔山牛皮消、耳叶牛皮消和戟叶牛皮消中四个 C₂₁-甾体苷元含量比较研究

谢凯强^{1,2},苑春茂²,蹇军友²,顾 玮²,田东松^{1,2},黄烈军^{2*},郝小江^{1,2*}

¹贵州大学药学院,贵阳 550025;²贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室,贵阳 550002

摘要:传统中药或民间应用对隔山牛皮消(*Cynanchum wilfordii*)、耳叶牛皮消(*Cynanchum auriculatum*)和戟叶牛皮消(*Cynanchum bungei*)三种药材基元植物基本上做白首乌或隔山消混用,其主要活性成分为 C₂₁-甾体类成分。三种药材均含有告达亭(caudatin)、去乙酰萝藦昔元(deacymetaplexigenin)、开德昔元(kidjolanin)和加加米宁(gagamine),本文利用 HPLC 分析技术,检测四个 C₂₁-甾体化合物在三种药材中的含量,为合理使用三种药材提供依据。平均每克药材中 C₂₁-甾体含量(mg/g)研究表明:告达亭在隔山牛皮消中含量(水解前/水解后 = 0.3542/9.7142)最高、耳叶牛皮消(水解前/水解后 = 0.2577/4.0825)次之、戟叶牛皮消(水解前/水解后 = 0.0734/0.1895)最少;其次开德昔元在耳叶牛皮消中含量(水解前/水解后 = 0.1102/0.6094)比戟叶牛皮消(水解前/水解后 = 0.0751/0.3225)和隔山牛皮消(水解前/水解后 = 0.0736/0.2813)高,而后两者含量相近;加加米宁、去乙酰萝藦昔元在三种药材中含量差别不明显。

关键词:隔山牛皮消;耳叶牛皮消;戟叶牛皮消;告达亭;开德昔元

中图分类号:R282.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.2.015

Comparison of Contents of Four C₂₁-Steroidals from *Cynanchum wilfordii*, *Cynanchum auriculatum* and *Cynanchum bungei*

XIE Kai-qiang^{1,2}, YUAN Chun-mao², JIAN Jun-you², GU Wei²,

TIAN Dong-song^{1,2}, HUANG Lie-jun^{2*}, HAO Xiao-jiang^{1,2*}

¹College of pharmacy, Guizhou University, Guiyang 550025, China; ²The key laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China

Abstract: Three plants, *Cynanchum wilfordii*, *Cynanchum auriculatum* and *Cynanchum bungei*, have been used for traditional Chinese medicine as "Bai-Shou-Wu" or "Ge-Shan-Xiao" for a long time, in which the one of main bioactive components are C₂₁-steroids. Since all of three plants contain caudatin, deacymetaplexigenin, kidjolanin, gagamine and their glycosides, which can be used as the standard components for qualitative and quantitative controls of these plants. In this study, HPLC analytic technology was used to detect the contents of the four C₂₁-steroids, providing the method of qualitative and quantitative controls guiding the scientific usage of these medicinal herbs. The average content of C₂₁-steroids in each gram of crude drug (mg/g) was investigated. As the results, the content of caudatin in *C. wilfordii* (before hydrolysis/after hydrolysis = 0.3542/9.7142) was highest than other two species (before hydrolysis/after hydrolysis = 0.2577/4.0825 for *C. auriculatum*, and before hydrolysis/after hydrolysis = 0.0734/0.1895 for *C. bungei*), while the content of kidjolanin in *C. auriculatum* (before hydrolysis/after hydrolysis = 0.1102/0.6094) was highest one among three species (before hydrolysis/after hydrolysis = 0.0751/0.3225 for *C. bungei*, and before hydrolysis/after hydrolysis = 0.0736/0.2813 for *C. wilfordii*). However, the contents of gagamine and deacymetaplexigenin in the three species were not obvious difference.

Key words: *Cynanchum wilfordii*; *Cynanchum auriculatum*; *Cynanchum bungei*; caudatin; kidjolanin

通过对土家族居住区武陵山脉一带的资源调查,民间主要有以下三种植物称之为隔山消:①耳叶牛皮消(*Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight.)^[1],分布于贵州铜仁,湖南保靖、永顺,重庆

收稿日期:2017-08-17 接受日期:2017-10-30

基金项目:国家自然科学基金(31760529)

*通信作者 Tel:86-851-82284349; E-mail:huangliejun@126.com

秀山等地。②隔山牛皮消 (*Cynanchum wilfordii* (Maxim.) Hemsl.)^[2,3], 分布于贵州, 湖南湘西, 湖北恩施, 重庆市等地。③戟叶牛皮消 (*Cynanchum bungei* Decne.)^[4], 分布于贵州, 湖南保靖、永顺, 重庆等地。与传统中药白首乌的主要来源: 耳叶牛皮消 (*Cynanchum auriculatum*)、隔山牛皮消 (*Cynanchum wilfordii*) 和戟叶牛皮消 (*Cynanchum bungei*) 的块根相一致^[5-8]。

隔山消中的 C₂₁-甾体酯苷类成分为其主要活性成分(图 1)^[8,9], 是其抗肿瘤、增强免疫力等药理作用的物质基础, 同时也是隔山消中的标志性化学成

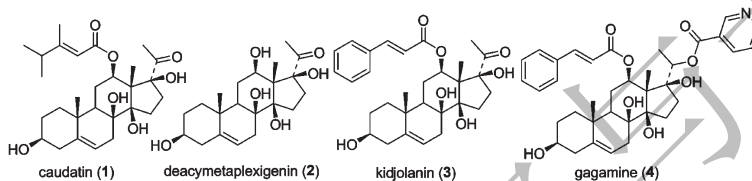


图 1 耳叶牛皮消、隔山牛皮消和戟叶牛皮消三种药材中共有的四个 C₂₁-甾体成分的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of the common four C₂₁-steroids from *C. auriculatum*, *C. wilfordii* and *C. bungei*

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器与试剂

超声波振动仪 (KUDO3 PL303, 250W, 50KHZ, 新乡市先锋振动机械有限公司); 旋转蒸发器 (OSB-2100, 郑州长城科工贸有限公司); 循环真空泵 (予华 SHZ-D, 巩义市予华仪器有限责任公司); 万分之一分析天平 (AL204, 梅特勒托里仪器上海有限公司); 高效液相色谱仪 (ULTI-MATE 3000, 戴安中国有限公司); 低温冷却液循环泵 (DLSK, 郑州科泰科技有限公司); 高速中药粉碎机 (XFB9-5070, 吉首市中湘制药机械厂)。告达亭 (caudatin)、去乙酰萝藦昔元 (deacymetaplexigenin)、开德昔元 (kidjolanin) 和加加米宁 (gagamine) 四个 C₂₁-甾体昔元标准品由贵州省-中国科学院天然产物化学重点实验室制

分^[10-12], 其含量的高低决定药材的质量优劣, 测定隔山消中 C₂₁-甾体酯苷类成分的含量可作为评价药材质量的依据。

鉴于耳叶牛皮消 (*Cynanchum auriculatum*) 已经作为普通食品 (国卫办食品函[2014]427号), 应用不断扩大, 而长期以来, 上述三种药材的块根作为中药材或民间药用存在混用现象, 因此有必要选择三个药材中共有的四个 C₂₁-甾体成分作为含量检测标准, 对其质量进行评价, 为三种药材的科学使用提供依据。

备^[2,3], 经 NMR 和 MS 鉴定, HPLC 对其进行纯度检测, 纯度大于或等于 98%。在所用试剂中, 甲醇和乙腈均为色谱纯, 硫酸为分析纯, 其他为化学纯; 水为双纯水; 以上试剂均购买于天津科密欧化学试剂有限公司。

1.1.2 实验样品

耳叶牛皮消、隔山牛皮消和戟叶牛皮消为萝藦科鹅绒藤属牛皮消组植物, 我们参考付文焕等对耳叶牛皮消总皂苷的提取方法来制备隔山消三个种的总 C₂₁-甾体昔元^[12]。三种药材分别取 1.00 g, 65% 乙醇提取, 总昔提取物用 65% 乙醇定容至 10 mL (No. 01-03); 另对应取 1.00 g 药材, 65% 乙醇提取, 总昔提取物经 10% 硫酸水解后总昔元用 65% 乙醇定容至 10 mL (No. 04-06)。每种药材平行 3 次, 共计 18 个检测样品, 样品来源见表 1。

表 1 三种隔山消的样品来源表

Table 1 Sample sources of *C. auriculatum*, *C. wilfordii* and *C. bungei*

样品编号 Sample number	样品种类 Sample type	样品产地 Sample origin
<i>C. auriculatum</i> 01-06	耳叶牛皮消 <i>C. auriculatum</i>	贵州贵阳 Guiyang, Guizhou
<i>C. wilfordii</i> 01-06	隔山牛皮消 <i>C. wilfordii</i>	贵州贵阳 Guiyang, Guizhou
<i>C. bungei</i> 01-06	戟叶牛皮消 <i>C. bungei</i>	山东泰安 Taian, Shandong

1.2 方法^[3-14]

1.2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil 100-5 RP-C₁₈(250×4.60 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(流速 1.00 mL/min),柱温 25 ℃;进样量:10.00 μL;紫外检测波长 220 nm;检

测时间:60 min,采用梯度洗脱^[3-14],程序如下:0~10 min,20%~30%乙腈;10~20 min,30%~40%乙腈;20~30 min,40%~50%乙腈;30~50 min,50%~70%乙腈;50~60 min,70%~20%乙腈。色谱图见图 2。

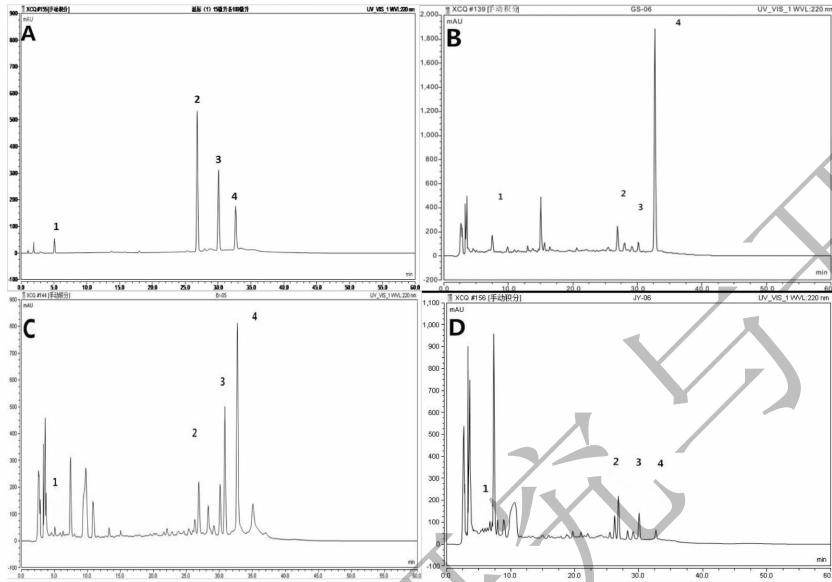


图 2 隔山消样品与 C₂₁-甾体苷元标准的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of four C₂₁-steroids standard and *C. wilfordii* sample

注:A:隔山消中五个 C₂₁-甾体苷元的混合标准品;B:隔山牛皮消供试品 C₂₁-甾体苷元;C:耳叶牛皮消供试品 C₂₁-甾体苷元;D:戟叶牛皮消供试品 C₂₁-甾体苷元;1. 去乙酰萝藦苷元;2. 加加米宁;3. 开德苷元;4. 告达亭

Note:A:five C₂₁-steroids glycosides in eliminating body mixed standard;B:C₂₁-steroids glycosides sample of *C. wilfordii*;C:C₂₁-steroids glycosides samples of *C. auriculatum*;D:C₂₁-steroids glycosides sample of *C. bungei*;1. deacetymetaplexigenin;2. gagamine;3. kidjolanin;4. caudatin

1.2.2 三种隔山消总 C₂₁-甾体供试品液的制备

将干燥的三种隔山消块根粉碎,准确称取粉末 1.00 g,置于 100.00 mL 圆底烧瓶中,加入 65% 乙醇 65.00 mL,回流提取 3 次,每次 2 h,平行测定 6 组 (No. 01~06)。将后三组(三个组中 No. 04~06)总浓缩物用 H₂O/CH₃OH(2:1)溶解,然后加入 10% 硫酸溶液,加热回流使其水解,回流 3 h 后,滴加 10% 氢氧化钠溶液调节 pH=7.00,减压回收甲醇得水解脱产物,然后用乙酸乙酯进行萃取,减压回收萃取溶剂,得到乙酸乙酯萃取部分浸膏即总苷元。将上述 18 个检测样品浸膏转入并用 65% 乙醇定容至 10.00 mL 容量瓶内,用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤,取滤液 1.50 mL 备用。

1.2.3 四个 C₂₁-甾体苷元标准品溶液的制备

精密称取告达亭(caudatin)、去乙酰萝藦苷元(deacetymetaplexigenin)和加加米宁(gagamine)和开

德苷元(kidjolanin),分别为 1.00、1.60、1.40、1.20 mg,用 65% 乙醇溶于 1.00 mL 容量瓶中,定容摇匀,即得四个 C₂₁-甾体苷元标准品储备液。分别用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取滤液备用。

2 结果与分析

2.1 线性关系考证

按 1.2.3 项制备标准品溶液,分别吸取 100 μg,65% 乙醇稀释至 1.00 mL,再分别吸取上述溶液 1、2、5、10、20、30、50 μL 稀释至 0.50 mL,配置一系列浓度梯度标准品溶液,按 1.2.1 色谱条件,进样量为 10 μL,测定峰面积,以标准品的峰面积 Y 为纵坐标,质量 X(μg)为横坐标,绘制标准曲线,并计算得四个 C₂₁-甾体苷元标准品的回归直线方程如表 2 所示。

表2 四个 C₂₁-甾体苷元线性关系
Table 2 Linearity of the four C₂₁-steroids

成分 Component	回归方程 Regression equation	R ²	线性范围 Linear range (μg)
告达亭 Caudatin	y = 10.197x + 2.3088	0.9997	0.10 ~ 10.00
去乙酰萝藦苷元 Deacymetaplexigenin	y = 1.1061x + 0.0098	0.9999	0.16 ~ 16.00
开德苷元 Kidjolanin	y = 14.869x + 0.41	0.9998	0.12 ~ 12.00
加加米宁 Gagamine	y = 21.651x + 0.6723	0.9999	0.14 ~ 14.00

2.2 精密度考证

取样品溶液(*C. auriculatum* 04),按 1.2.1 的色谱条件进样,连续进样 6 次,进样量为 10 μL,测定四个苷元的峰面积值,根据记录的峰面积算得对应

的苷元告达亭、去乙酰萝藦苷元、开德苷元、加加米宁的 RSD 值分别为 0.04%、0.01%、0.11%、0.04%,结果表明所用仪器精密度良好(表 3)。

表3 仪器精密度试验结果
Table 3 Precision experiment results

成分 Component	峰面积 Peak area (mAU * min)						平均峰面积 Average peak area	RSD (%)
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6		
告达亭 Caudatin	210.5245	210.3875	210.4567	210.5376	210.5883	210.5879	210.5138	0.04
去乙酰萝藦苷元 Deacymetaplexigenin	6.5294	6.5297	6.5286	6.5298	6.5289	6.5295	6.5293	0.01
开德苷元 Kidjolanin	45.8856	45.7617	45.8766	45.8850	45.8846	45.8875	45.8635	0.11
加加米宁 Gagamine	45.5897	45.5768	45.5452	45.5864	45.5888	45.5792	45.5777	0.04

2.3 稳定性考证

在室温下,取样品溶液(*C. auriculatum* 06),按 1.2.1 的色谱条件进样,分别于 0、2、4、8、12、24 h 进行测定,进样量为 10 μL,考察其稳定性,根据记录

的峰面积算得告达亭、去乙酰萝藦苷元、开德苷元、加加米宁的 RSD 值分别为 0.04%、0.16%、0.11%、0.05%,结果表明本实验的样品溶液在 24 h 内稳定性良好(表 4)。

表4 样品溶液的稳定性试验结果
Table 4 Stability testing results

No.	去乙酰萝藦苷元 Deacymetaplexigenin (mAU * min)	加加米宁 Gagamine (mAU * min)	开德苷元 Kidjolanin (mAU * min)	告达亭 Caudatin (mAU * min)
1	6.5298	45.5887	45.8846	210.5231
2	6.5294	45.5768	45.7617	210.3869
3	6.5286	45.5452	45.8766	210.4582
4	6.5298	45.6164	45.8850	210.5376
5	6.5489	45.5888	45.8846	210.5879
6	6.5495	45.5792	45.8846	210.5879
平均峰面积 Average peak area	6.5360	45.5825	45.8629	210.5136
RSD 值 (%)	0.16	0.05	0.11	0.04

2.4 重现性考证

分别称取耳叶牛皮消药材粉末 1.00 mg 左右(6 份),操作按样品溶液制备,按 1.2.1 的色谱条件进样,分别进样 10 μL,记录结果并计算各峰面积的相

对标准偏差(RSD 值),根据记录的峰面积算得告达亭、去乙酰萝藦苷元、开德苷元、加加米宁的 RSD 值分别为 0.04%、0.06%、0.03%、0.09%,结果表明本实验所用分析方法的重现性良好(表 4)。

表 5 分析方法的重现性试验结果

Table 5 The reproducibility of analytical methods

样品 Sample	去乙酰萝藦苷元 Deacymetaplexigenin (mAU * min)	加加米宁 Gagamine (mAU * min)	开德昔元 Kidjolanin (mAU * min)	告达亭 Caudatin (mAU * min)
Er-04	6.5203	45.5887	45.8902	210.5478
Er-05	6.5256	45.5800	45.7903	210.3900
Er-06	6.5300	45.5502	45.8899	210.4678
Er-07	6.5294	45.5907	45.8845	210.5778
Er-08	6.5289	45.5878	45.8867	210.5677
Er-09	6.5267	45.5787	45.8876	210.5765
平均峰面积 Average peak area	6.5268	45.5794	45.8715	210.5213
RSD (%)	0.06	0.03	0.09	0.04

2.5 加样回收实验考证

精密称取已知含量的耳叶牛皮消药材生品粉末 1.00 mg, 一共 45 份, 随机分成 3 组分别按高 (120%)、中 (100%)、低 (80%) 3 个水平分别加入 4 种标准品溶液, 按照样品供试液制备方法制备加样回收供试液, 按 1.2.1 的色谱条件进样并测定含量,

结果见表 6。通过计算得标准品告达亭的平均回收率为 100.10%, RSD 值为 0.21%; 去乙酰萝藦苷元的平均回收率为 100.20%, RSD 值为 0.30%; 开德昔元的平均回收率为 101.10%, RSD 值分别为 1.09%; 加加米宁的平均回收率为 100.30%, RSD 值为 0.90%。

表 6 隔山消样品四个 C₂₁-甾体苷元加样回收率 (n=9)Table 6 Recovery rates of four C₂₁-steroids in *Cynanchum* samples (n=9)

成分 Component	样品中含量 Content in sample (μg)	加入标准品量 Added standard quantity (μg)	实测含量 Measured content (μg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
告达亭 Caudatin	19.4656	15.5450	35.0791	100.44	100.13	0.21
	19.4599	15.5450	35.0011	99.98		
	19.4508	15.5450	35.0129	100.11		
	19.4370	19.4312	38.8624	99.97		
	19.4310	19.4312	38.8679	100.03		
	19.4400	19.4312	38.9029	100.16		
	19.4398	23.3174	42.7397	99.92		
	19.4635	23.3174	42.7978	100.07		
	19.4456	23.3174	42.8840	100.52		
开德昔元 Kidjolanin	0.5656	0.4506	1.0179	100.38	101.13	1.09
	0.5599	0.4506	1.0106	100.02		
	0.5508	0.4506	1.0129	102.55		
	0.5522	0.5632	1.1289	102.40		
	0.5657	0.5632	1.1279	99.82		
	0.5636	0.5632	1.1288	100.36		
	0.5578	0.6758	1.2397	100.90		
	0.5635	0.6758	1.2478	101.26		
	0.5456	0.6758	1.2384	102.52		
去乙酰萝藦苷元 Deacymetaplexigenin	2.4865	1.9902	4.4857	100.45	100.20	0.30
	2.4875	1.9902	4.4685	99.54		
	2.4898	1.9902	4.4897	100.49		
	2.4878	2.4878	4.9825	100.28		
	2.4871	2.4878	4.9786	100.15		

续表 6(Continued Tab. 6)

成分 Component	样品中含量 Content in sample (μg)	加入标准品量 Added standard quantity (μg)	实测含量 Measured content (μg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
加加米宁 Gagamine	2.4857	2.4878	4.9795	100.24	100.32	0.90
	2.4878	2.9854	5.4708	99.92		
	2.4835	2.9854	5.4797	100.36		
	2.4849	2.9854	5.4807	100.35		
	0.8856	0.7071	1.5879	99.32		
	0.8799	0.7071	1.5906	100.51		
	0.8808	0.7071	1.5999	101.70		
	0.8822	0.8838	1.7689	100.33		
	0.8757	0.8838	1.7679	100.95		
	0.8936	0.8838	1.7708	99.25		
	0.8778	1.0606	1.9307	99.27		
	0.8735	1.0606	1.9478	101.29		
	0.8756	1.0606	1.9385	100.22		

2.6 样品含量测定

样品测定:运用此方法对不同产地隔山消药材样品进行测定。精密吸取样品供试液适量,按 1.2.1

的色谱条件进样,将所得峰面积代入相应的标准曲线计算含量,结果见表 7。

表 7 耳叶牛皮消、隔山牛皮消和戟叶牛皮消三种药材样品中四个 C_{21} -甾体苷元含量($n=3$)Table 7 Content determination of four C_{21} -steroids of *C. auriculatum*, *C. wilfordii* and *C. bungei* ($n=3$)

样品编号 No.	告达亭 Caudatin (mAU * min)	告达亭 Caudatin (mg/g)	Mean \pm SD (mg/g)	去乙酰萝 藜苷元 Deacymeta Deacymeta plexigenin lexigenin (mAU * min) (mg/g)		Mean \pm SD (mg/g)	开德苷元 kidjolanin (mAU * min)	开德苷元 kidjolanin (mg/g)	Mean \pm sd (mg/g)	加加米宁 gagamine (mAU * min)	加加米宁 gagamine (mg/g)	Mean \pm sd (mg/g)
				去乙酰萝 藜苷元 Deacymeta Deacymeta plexigenin lexigenin (mAU * min) (mg/g)	去乙酰萝 藜苷元 Deacymeta Deacymeta plexigenin lexigenin (mAU * min) (mg/g)							
<i>C. wilfordii</i> 01	20.3688	0.3542	0.3542 \pm 0.0003	3.3971	0.6125	0.6126 \pm 0.0008	5.8863	0.0737	0.0736 \pm 0.0006	5.6808	0.0463	0.0464 \pm 0.0019
<i>C. wilfordii</i> 02	20.3697	0.3542		3.4011	0.6132		5.8798	0.0736		5.6999	0.0464	
<i>C. wilfordii</i> 03	20.3599	0.354		3.3958	0.6122		5.8834	0.0736		5.6912	0.0464	
<i>C. wilfordii</i> 04	497.5071	9.7126	9.7142 \pm 0.0002	6.8972	1.2453	1.2445 \pm 0.0006	21.3025	0.281	0.2813 \pm 0.0011	48.3672	0.4406	
<i>C. wilfordii</i> 05	497.5951	9.7144		6.8899	1.244		21.3459	0.2816		48.4006	0.4409	0.4405 \pm 0.0010
<i>C. wilfordii</i> 06	497.6567	9.7156		6.8905	1.2441		21.3317	0.2814		48.305	0.44	
<i>C. auriculatum</i> 01	15.4586	0.2579	0.2577 \pm 0.0012	3.1361	0.5653	0.5655 \pm 0.0004	8.5967	0.1101		5.7507	0.0469	
<i>C. auriculatum</i> 02	15.4305	0.2574		3.1378	0.5656		8.6023	0.1102	0.1102 \pm 0.0003	5.7678	0.0471	0.0470 \pm 0.0017
<i>C. auriculatum</i> 03	15.4572	0.2579		3.1388	0.5658		8.5987	0.1101		5.7598	0.047	
<i>C. auriculatum</i> 04	210.4082	4.0816	4.0825 \pm 0.0002	6.5187	1.1769	1.1772 \pm 0.0014	45.6617	0.6087	0.6094 \pm 0.0032	45.5552	0.4146	
<i>C. auriculatum</i> 05	210.4969	4.0833		6.512	1.1757		45.6066	0.6079		45.5768	0.4148	0.4148 \pm 0.0004
<i>C. auriculatum</i> 06	210.4631	4.0827		6.5298	1.1789		45.8846	0.6117		45.5887	0.4149	
<i>C. bungei</i> 01	6.053	0.0734	0.0734 \pm 0.0003	2.9986	0.5404	0.5409 \pm 0.0011	5.9916	0.0751	0.0751 \pm 0.0014	5.5501	0.0451	
<i>C. bungei</i> 02	6.0548	0.0735		3.0002	0.5407		5.9878	0.075		5.5497	0.0451	0.0451 \pm 0.0005
<i>C. bungei</i> 03	6.0523	0.0734		3.005	0.5416		6.0025	0.0752		5.5543	0.0451	
<i>C. bungei</i> 04	11.9538	0.1892	0.1895 \pm 0.0016	6.2725	1.1324	1.1325 \pm 0.0006	24.3798	0.3224	0.3225 \pm 0.0004	45.684	0.4158	0.4156 \pm 0.0007
<i>C. bungei</i> 05	11.982	0.1897		6.2697	1.1319		24.3835	0.3225		45.6678	0.4156	
<i>C. bungei</i> 06	11.9799	0.1897		6.2767	1.1332		24.3987	0.3227		45.6214	0.4152	

HPLC 含量测定实验结果表明:耳叶牛皮消、隔山牛皮消和戟叶牛皮消三种药材的 10% 硫酸水解前后含量呈线性关系,其中告达亭(1)的含量差别最为明显,隔山牛皮消中含量(水解前 0.3542 mg/g、水解后 9.7142 mg/g)最高、耳叶牛皮消(水解前 0.2577 mg/g、水解后 4.0825 mg/g)次之、而戟叶牛皮消中含量(水解前 0.0734 mg/g、水解后 0.1895 mg/g)最低;其次,耳叶牛皮消中开德昔元(3)的含量(水解前 0.1102 mg/g、水解后 0.6094 mg/g)比戟叶牛皮消(水解前 0.0751 mg/g、水解后 0.3225 mg/g)和隔山牛皮消(水解前 0.0736 mg/g、水解后 0.2813 mg/g)高,而后两者含量相近;此外,去乙酰萝藦昔元(2)和加加米宁(4)的含量在三种药材中差别不明显,难以做出判断。上述结果还表明:水解后告达亭(1)、开德昔元(3)和加加米宁(4)的含量显著提高,一方面说明该水解方法对于其相应的皂苷糖链水解的有效性,同时还表明该水解方法对其 12-O-酰基(对于加加米宁(4)还包括 17-O-酰基)具有较好的保护作用。

3 结论

对耳叶牛皮消、隔山牛皮消和戟叶牛皮消三种药材共有的 C₂₁-甾体苷元分析表明,告达亭(1)和开德昔元(3)的定量测定可以作为识别上述三种药材的标准。如果考虑以告达亭作为主要活性成分,隔山牛皮消在上述三种药材中应为首选。总之,通过对三种药材的分析,为正确使用三种药材提供了依据。

参考文献

- Guo N (郭娜), Li XP (李晓鹏), Xu Z (许栒), et al. Isolation and identification of C₂₁ steroids from *Cynanchum auriculatum* [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2016, 33: 28-33.
- Huang LJ, Wang B, Zhang JX, et al. Studies on cytotoxic pregnanesapogenins from *Cynanchum wilfordii* [J]. *Fitoterapia*, 2015, 101: 107-116.
- Huang LJ, Wang B, Zhang JX, et al. Synthesis and evaluation of antifungal activity of C₂₁-steroidal derivatives [J]. *Bioorgan Med Chem Lett*, 2016, 26: 2040-2043.
- Gong SL (龚淑玲), Bai YP (白燕萍). Studies on chemical constituents of *Cynanchum bungei* [J]. *Strait Pharm J* (海峡药学杂志), 2009, 21(11): 84-89.
- Xu LC (徐凌川), Zhang H (张华), Xu CS (许昌盛). A review of modern research on chemical constituents and pharmacological in *Cynanchum bungei* [J]. *Study J Tradit Chin Med* (中医药学刊), 2003, 21: 1893-1895.
- Zhang JF (张建烽), Li YB (李友宾), Qian SH (钱士辉), et al. Studies on chemical constituents in root tuber of *Cynanchum auriculatum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31: 814-816.
- He Y (贺艳), Dong LL (董玲玲), Fang L (方丽), et al. Microwave extraction of C₂₁ steroidal-glycosides from *Cynanchum auriculatum* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2006, 17: 2530-2532.
- Gong SS (龚树生), Liu CD (刘成娣), Liu SL (刘锁兰), et al. Studies on constituents on Chinese traditional durg baishouw (*Cynanchum auriculatum* Royle ex wight) [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1988, 23: 276-280.
- Yin M (印敏), Feng X (冯煦), Dong YF (董云发), et al. Advances in research of chemistry and pharmacology of Baishou-wu [J]. *Chin Wild Plant Res* (中国野生植物资源), 2004, 23(2): 8-11.
- Peng YR (彭蕴茹), Ding YF (丁永芳), Li YB (李友宾), et al. Current situation of research on *Cynanchum Bungei* Radix [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2013, 44: 370-378.
- Cao XJ, Tai YP, Li XY, et al. Screening for pregnane glycosides with immunological activities from the stems of *Stephanotis mucronata* by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20: 403-411.
- Fu WH (付文焕). Study of traditional Chinese medicine of Baishouw chemical substance and medicinal quality standard [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine (北京中医药大学), 2003.
- He JM (何俊梅), Yuan CM (苑春茂), Chen YX (陈永霞), et al. An investigation of alkaloid content of native and transplanted *Spiraea japonica* population [J]. *J Mount Agric Biol* (山地农业生物学报), 2016, 35(5): 77-82.
- Yan J (颜剑), Li L (林玲), Liu YY (刘圆圆), et al. Study on detection of the chemical constituents in *Cynanchum* by HPLC [J]. *J North Pharm* (北方药学), 2015, 12(9): 14-15.