

- 183
- 15 Tsuura M, Terada T, Nakamura Y, *et al.* Magnetic resonance signal intensity and volume changes after endovascular treatment of intracranial aneurysms causing mass effect[J]. *Neuroradiology*, 1998, 40: 184 - 188
- 16 Gruber A, Killer M, Bavinski G, *et al.* Clinical and angiographic results of endovascular coiling treatment of giant and very large intracranial aneurysms: a 7 - year, single - center experience[J]. *Neurosurgery*, 1999, 45: 793 - 804
- 17 Szikora I, Berentei Z, Kulcsar Z, *et al.* Treatment of intracranial aneurysms by functional reconstruction of the parent artery: the Budapest experience with the Pipeline embolization device[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2010, 31: 1139 - 1147
- 18 Nelson PK, Lylyk P, Szikora I, *et al.* The Pipeline embolization device for the intracranial treatment of aneurysms trial[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2011, 32: 34 - 40
- 19 Lubicz B, Collignon L, Raphaeli G, *et al.* Flow - diverter stent for the endovascular treatment of intracranial aneurysms: a prospective study in 29 patients with 34 aneurysms[J]. *Stroke*, 2010, 41: 2247 - 2253
- 20 Fiorella D. Pipeline in clinical practice in 2011[J]. *Neuroradiology*, 2012, 54: 277 - 278
- (收稿日期: 2014 - 03 - 05)
- (修回日期: 2014 - 04 - 08)

HPLC 法测定华东菝葜中薯蓣皂苷元的含量

钱芳芳 张长林

摘要 目的 建立华东菝葜药材中成分薯蓣皂苷元的含量测定方法。方法 采用 ZORBAX SB - C18(4.6mm × 250mm × 5μm) 色谱柱, 乙腈 - 水(90:10) 为流动相, 检测波长为 203nm, 流速为 1ml/min, 柱温为 30℃。结果 薯蓣皂苷元在 40.08 ~ 400.80μg/ml 浓度范围内与峰面积呈良好线性关系, 相关系数 $r = 0.9997$, 样品回收率为 97.56%, RSD = 0.59% ($n = 6$)。结论 该方法简便、准确, 结果稳定, 可用于华东菝葜中薯蓣皂苷元的测定。

关键词 高效液相; 华东菝葜; 薯蓣皂苷元; 含量测定

[中图分类号] R9 [文献标识码] A

Determination of the Diosgenin in *Smilax Sieboldii* Miq by HPLC. Qian Fangfang, Zhang Changlin. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong 250011, China

Abstract Objective To establish a method for determination of diosgenin in *Smilax sieboldii* Miq. **Methods** The method was adopted for the determination with ZORBAX SB - C18(4.6mm × 250mm × 5μm) as chromatographic column, acetonitrile - water (90:10) as mobile phase; the wavelength was 203nm. The flow rate was 1.0ml/min and the column temperature was at 30℃. **Results** Range of diosgenin were 40.08 - 400.80μg/ml ($r = 0.9997$), with average recoveries of 97.56% ($n = 6$), RSD = 0.59%. **Conclusion** The method is simple, accurate and stable, which could be used for the quality control of *Smilax sieboldii* Miq.

Key words HPLC; *Smilax sieboldii* Miq; Diosgenin; Content determination

华东菝葜 *Smilax sieboldii* Miq. 为百合科植物, 以干燥根及根茎入药, 具有祛风除湿, 通络止痛之功效, 用于治疗风湿筋骨疼痛, 疔疮肿毒, 偏头疼等症, 为《山东省中药材标准》(2002 版) 所收载, 作威灵仙使用^[1]。目前药理研究发现华东菝葜具有免疫系统活性、抗肿瘤作用和心血管系统作用等^[2-4]。华东菝葜化学成分主要有皂苷、鞣质、树脂及大量淀粉等。薯蓣皂苷元是其主要有效成分, 药理作用主要表现在抗

肿瘤、调节血脂、抗血小板聚集及对心脑血管作用等方面^[5-14]。目前有关华东菝葜药材的质量控制方法尚未见报道, 本实验以薯蓣皂苷元为指标, 利用高效液相色谱法进行含量测定, 为华东菝葜药材的质量控制提供一定依据。

仪器与方法

1. 仪器: 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 1260 型二极管阵列检测器(美国安捷伦公司), 1260 型 DAD 色谱工作站(美国安捷伦公司), SK5200H 型超声波清洗仪(上海科导仪器有限公司), 电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司), CP2250 型电子分析天平(奥豪斯国际贸易有限公司); 薯蓣皂苷元对照品(购自成都普瑞法科技开发

作者单位: 250011 济南, 山东中医药大学(钱芳芳); 250011 济南, 山东中医药大学附属医院(张长林)

通讯作者: 张长林, 主任药师, 电子信箱: szyzel@sina.com

有限公司,批号 14031005,供含量测定用),乙腈为色谱纯,其他化学试剂均为分析纯。本实验所用药材均有山东中医药大学药学实验室徐凌川教授鉴别为百合科植物华东菝葜,产地分别为安徽、四川及陕西省,现保存于山东中医药大学第一附属医院药学部实验室。

2. 色谱条件:色谱柱:ZORBAX SB - C₁₈ (4. 6mm × 250mm × 5μm);流动相:乙腈 - 水 (90: 10);波长:203nm;流速:1ml/min;柱温:30℃;进样量:10μl。理论塔板数按薯蓣皂苷元计算不低于 3000。在此条件下,华东菝葜提取物供试品中薯蓣皂苷元色谱与其他色谱峰可达基线分离 (图 1、图 2)。

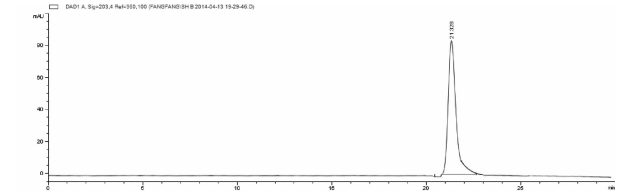


图 1 薯蓣皂苷元对照品 HPLC 色谱图

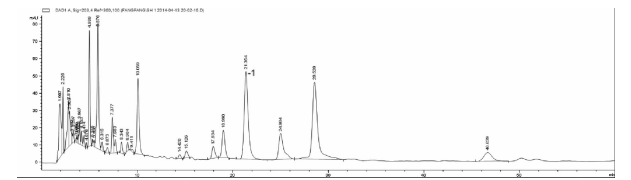


图 2 华东菝葜药材 HPLC 色谱图

* 薯蓣皂苷元

3. 溶液制备:(1)对照品溶液的制备:精确称取薯蓣皂苷元对照品 10.02mg,置于 25ml 容量瓶,加乙腈定容至刻度线,备用。(2)供试品溶液的制备:取本品粉末 (过二号筛) 约 10g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醇适量,浸渍过夜,加热回流至提取液近无色,回收溶剂至约 100ml,加盐酸 16ml,加热回流水解 2h,冷却,石油醚 (60 ~ 90℃) 萃取 4 次,每次 20ml,合并萃取液,回收溶剂至干,残渣加乙腈溶解并转移至 10ml 容量瓶中,加乙腈至刻度,摇匀、滤过,取续滤液即得。

结 果

1. 线性关系考察:取薯蓣皂苷元对照品,精密称定,制成 40.08、80.16、160.32、240.48、400.80μg/ml 浓度的溶液,按本文“色谱条件”项下色谱方法,分别注入高效液相色谱仪测定,以进样量为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y),绘制标准曲线,计算得回归方程:Y = 5.8127X + 24.084,相关系数 r = 0.9997,结果表明,薯蓣皂苷元在 40.08 ~ 400.80μg/ml 范围内其浓度与峰面积呈良好线性关系。

2. 精密度实验:取同一浓度对照品溶液,按本文“色谱条件”项下色谱方法测定,进样 10μl,连续进样 6 次,以峰面积计算,结果薯蓣皂苷元峰面积的 RSD 为 0.81%,表明高效液相色谱仪精密度良好。

3. 稳定性实验:制备供试品溶液,分别在 0、2、6、12、20、24h 时,按本文“色谱条件”项下色谱方法测定,分别进样 10μl,以峰面积计算,结果薯蓣皂苷元峰面积的 RSD 为 0.4%,表明薯蓣皂苷元样品溶液在 24h 内稳定。

4. 重现性实验:取样品,按照供试品溶液制备方法,平行制备 5 份,按本文“色谱条件”项下色谱方法测定,以峰面积计算含量,结果薯蓣皂苷元峰面积的 RSD 为 0.45%,表明此方法重现性符合要求。

5. 加样回收率实验:准确称取已知含量的样品,精密加入一定量的薯蓣皂苷元对照品,同时制备 6 份,按本文“色谱条件”项下色谱方法测定,结果见表 1。

表 1 薯蓣皂苷元加样回收试验结果 (n = 6)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.16	0.1602	0.3131	95.57		
0.158	0.1602	0.3081	93.7		
0.159	0.1602	0.3134	96.38	95.13	1.19
0.159	0.1602	0.3127	95.94		
0.16	0.1602	0.3102	93.76		
0.161	0.1602	0.3139	95.44		

6. 样品含量测定:按供试品制备方法制备样品溶液,按“色谱条件”项下色谱方法测定,每次进样 10μl,重复 3 次,记录峰面积,用外标法计算含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定

省份	含量 (%)	RSD (%)
安徽省	0.02502	
	0.02523	0.4
	0.02519	
四川省	0.02312	
	0.0232	0.9
	0.02281	
陕西省	0.02987	
	0.03025	1.2
	0.03059	

讨 论

1. 提取方法的选择:参考文献 [15 ~ 17],对提取方法进行考察。预实验时比较了先用乙醇提取、后用盐酸水解法和先用盐酸水解法、后用石油醚萃取法及两相溶剂直接水解提取等方法,结果发现先用乙醇提取,再用盐酸水解,最后石油醚萃取的方法最有利于本药材供试品溶液的制备,且测定的薯蓣皂苷元含量

较高(安徽、四川及陕西省产华东菝葜中薯蓣皂苷元含量分别高于 0.025、0.023 及 0.029。而前两种方法测定 3 个产地华东菝葜中薯蓣皂苷元的含量均低于 0.020)。

2. 流动相的选择:在选择流动相的过程中,曾采用甲醇-水、甲醇-0.1% 磷酸水等不同流动相系统等度洗脱,但分离效果均不理想。经反复实验后,发现乙腈-水(90:10)等度洗脱薯蓣皂苷元色谱峰峰形较好,保留时间合适,故选用乙腈-水等度洗脱。

近年来,对华东菝葜药材中薯蓣皂苷元含量测定的研究尚未见报道,本研究建立了该药材中薯蓣皂苷元的测定方法,为华东菝葜药材的质量控制提供依据,且本方法简便、准确,结果稳定。应用建立的分析方法,对安徽、四川和陕西省 3 个产地的华东菝葜样品进行了分析,结果发现,陕西产的华东菝葜所含薯蓣皂苷元的含量在 3 批样品中最高。华东菝葜在抗肿瘤、抗炎及免疫系统等方面具有显著的疗效,因此可以对陕西产华东菝葜进行系统研究,以期开发抗肿瘤和免疫系统等方面疾病的新药。

参考文献

- 1 中国医学科学院药物研究所. 中药志(I) [M]. 北京:人民卫生出版社,1982:201
- 2 石强. 粘鱼须威灵仙和棉团铁线莲对细胞免疫和体液免疫的影响比较[J]. 医药导报,2011,30(2):163-166
- 3 石强. 粘鱼须威灵仙棉团铁线莲对非特异性免疫的比较[J]. 医药导报,2011,30(7):872-874
- 4 凌博凡,王瑞平,邹玺. 菝葜皂苷元对结肠癌细胞 Lovo 粘附和侵袭能力的影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2012,14(2):90-92
- 5 何焱,王继双,张鹏,等. 薯蓣皂苷元联合 TRAIL 对非小细胞肺癌 A549 细胞的协同作用及其中效原理评价[J]. 药学报,2013,48

- (1):45-51
- 6 洪振强,高弘建,伏勇. 薯蓣皂苷元抗骨肉瘤机制及与 Wnt/ β -catenin 信号通路的关系[J]. 福建中医药大学学报,2013,23(3):11-14
- 7 Wang X, Cheng Y, Wang N, *et al.* Dioscin induces cancer cell apoptosis through elevated oxidative stress mediated by downregulation of peroxiredoxins [J]. Cancer Biol Ther,2012,13(3):138-147
- 8 Uemura T, Goto T, Kang Ms, *et al.* Diosgenin, the main aglycon of fenu-greek, inhibits LXRA activity in HePG₂ cells and decreases plasma and hepatic triglycerides in obesediabetic mice [J]. J Nutr,2011,141(1):17-23
- 9 马海英,赵志涛. 薯蓣皂苷元和黄山药总皂苷元抗高脂血症作用比较[J]. 中国中药杂志,2002,27(7):528-530
- 10 宁可永,李贻奎. 薯蓣皂苷元对大鼠体内外血栓形成及血液黏度的影响[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(1):3-5
- 11 宁可永,高会丽,李贻奎,等. 薯蓣皂苷元对正常麻醉犬心脏血流动力学的影响[J]. 中药新药与临床药理,2007,18(6):421-424
- 12 Gong G, Qin Y, Huang W. Anti-thrombosis effect of diosgenin extract from Dioscorea zingibensis C. H. Wright in vitro and in vivo [J]. Phytomedicine,2011,18(6):458-463
- 13 Ho YJ, Tai SY, Pawlak CR, *et al.* Behavioral and IL-2 responses to diosgenin in ovariectomized rats [J]. Chin J Physiol,2012,55(2):91-100
- 14 Chiu CS, Chiu YJ, Wu LY, *et al.* Diosgenin ameliorates cognition deficit and attenuates oxidative damage in senescent mice induced by D-galactose [J]. Am J Chin Med,2011,39(3):551-563
- 15 王俊,陈钧,杨克迪. 测定穿山龙中薯蓣皂苷元的前处理方法的改进[J]. 中国药学杂志,2005,40(9):660-663
- 16 鲁鑫焱,赵怀清. 薯蓣皂苷元的提取与分离分析方法[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(6):465-458
- 17 都述虎,夏重道,付铁军,等. 穿龙薯蓣总皂甙水解条件的优化 [J]. 中成药,2000,22(9):608

(收稿日期:2014-04-11)

(修回日期:2014-05-13)

脓毒症相关性脑病在 ICU 发生的危险因素分析

冯丽芝 周青山

摘要 目的 探讨重症监护病房中脓毒症患者并发脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy)的流行病学特点及危险因素。**方法** 回顾性分析 2012 年 9 月~2013 年 9 月笔者医院 ICU 收治 220 例脓毒症患者的临床资料,比较发生 SAE 组与非 SAE 组患者的年龄、性别构成、病死率、住院时间、住 ICU 时间、病原学资料、血常规、电解质、肝肾功能、血气、APACHEII 评分。**结果** 脓毒症相关性脑病的发生率为 39.55%,两组患者的住院时间、住 ICU 时间、G⁻ 及 G⁺ 菌检出率、WBC、K⁺、TBIL、

作者单位:430060 武汉大学人民医院重症医学科

通讯作者:周青山,博士,副教授,主任医师,电子信箱:elishanxiu@sina.com