

## · 实验研究 ·

## 高效液相色谱法分离测定辽吉侧金盏花中强心甙

哈尔滨医科大学 谷学林 冯建翔

白求恩医科大学 马冰如 石 钺

**提 要** 作者使用甲醇-水作为流动相,在ODS反相柱上分离测定了辽吉侧金盏花中强心甙。实验结果表明辽吉侧金盏花中含有生物学活性极强的K-毒毛旋花子甙和K-毒毛旋花子次甙- $\beta$ 及索马林,其含量分别为 $0.13 \pm 0.01\%$ ,  $0.071 \pm 0.005\%$ ,  $0.024 \pm 0.003\%$ 。

**关键词** 辽吉侧金盏花 强心甙 反相高效液相色谱法

辽吉侧金盏花(*Adonis Pseudoamurensis* W. T. Wang)为毛茛科(*Ranunculaceae*)侧金盏花属*Adonis* L.植物<sup>[1]</sup>,其同属植物均富含强心甙<sup>[2]</sup>。辽吉侧金盏花系我国新发现并命名的品种,1985年报道<sup>[3]</sup>了其根部提得了一单体强心甙—索马林,但对辽吉侧金盏花中的其它强心成分目前还不清楚。

药理研究表明,辽吉侧金盏花的强心甙粗提物具有增强心肌收缩作用,其安全范围和治疗指数大于侧金盏花中强心甙<sup>[4]</sup>。众所周知,侧金盏花曾被认为是有价值的洋地黄代用品<sup>[5,6]</sup>。因此,在广泛寻找比洋地黄类治疗指数大、正性肌力作用更强的强心药的今天,深入探索辽吉侧金盏花中所含的强心甙是极其必要的。

作者采用反相高效液相色谱方法分离测定了辽吉侧金盏花根部所含的强心甙。

## 材料和方法

## 一、试剂与仪器

(一)试剂 甲醇:分析纯;新鲜重蒸馏水;索马林:由作者分离所得,经色谱检查

和响应值测定已达到色谱级要求<sup>[3]</sup>;K-毒毛旋花子甙和K-毒毛旋花子次甙- $\beta$ :美国SIGMA化学公司,为色谱级试剂。

(二)仪器 LC-4A高效液相色谱仪:日本岛津产;SPD-2AS可变波长分光光度计;ODS反相色谱柱(150×6.0 mm, 5  $\mu$ m)日本岛津产;CR-3A微处理器;Sartorius电子分析天平(准确到0.001 mg)。

## 二、方法与过程

(一)辽吉侧金盏花根部总强心甙的提取

辽吉侧金盏花采自吉林省辉南县石道河镇零点桥。采集时间为1988年4月24日。采集后,将其根部洗净放在50℃烘箱中烘干后,粉碎(20~40目)。取此粉末25.00 g,用100.0 ml 95%乙醇室温浸泡24小时,过滤,收集浸液。如此反复数次,直至3.5-二硝基苯甲酸试验阴性。于45℃下减压浓缩浸液至5 ml,加入5 ml蒸馏水,放入冰箱中冷冻去胶。24小时后,过滤浓缩液,滤液用20 ml氯仿及20 ml氯仿-乙醇(1:1)反复交替萃取,直至水层对3.5-二硝基苯甲酸试验阴性为止。合并萃取液,在45℃下减压蒸

馏, 除去溶剂, 得含强心甙的金黄色粉末 0.6254g, 收率为2.50%。

## (二) 回收率

取辽吉侧金盏花根粉25.00g 三份, 分别加入 5 mg 加拿大麻甙。处理方法与(一)项相同。实验结果, 平均回收率为 $97.5 \pm 1.4\%$ 。

## (三) 标准溶液和样品溶液的配制

称取索马林0.720 mg、K-毒毛旋花子甙 1.200 mg、K-毒毛旋花子次甙- $\beta$  1.100 mg 及内标物加拿大麻甙 0.940 mg, 用10.0 ml 流动相溶解在10ml 容量瓶中, 配制成标准溶液; 称取38.8 mg 总强心甙提取物两份, 一份直接用流动相溶解在 10 ml 量瓶中, 配制成未加内标物的样品溶液; 另一份加入0.900 mg 内标物后用10.0 ml流动相溶解在10 ml 量瓶中, 配制成加内标物的样品溶液。

## (四) 色谱过程

使用微量注射器进样, 每种溶液进样量均为10.0  $\mu$ l。检测强心甙在218 nm 处的紫外吸收, 此波长为强心甙的 $\Delta\alpha, \beta$ - $\gamma$ -内酯环的最大吸收波长。使用CR-3A 微处理机进行定性定量。定性采用相对保留时间方法, 定量采用内标方法, 使用峰面积参数。

# 实验结果

## 一、色谱峰的分离与定性

由于温度对强心甙在 ODS 柱上的分离影响较小<sup>[7]</sup>, 故分离测定工作均在略高于室温(31 $^{\circ}$ C)条件下进行。使用甲醇和水作为溶剂系统。适当选择甲醇与水的配比及流动相流速, 可以获得比较满意的色谱分离。图 1 为辽吉侧金盏花中所含的几种强心甙标准品和内标物(加拿大麻甙)的色谱图。图 1 中的色谱峰均为基线分离峰, 分离度大于 2。辽吉侧金盏花根部提取物的色谱图如图 2 所示。

图 1 与图 2 中各流出定性峰的相对保留时间(以加拿大麻甙为基准)列在表 1 中。

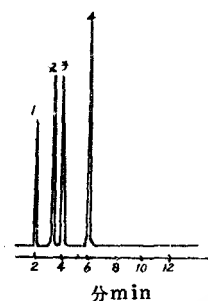


Fig. 1. Chromatography of standard cardiac glycosides Conditions Column: ODS reversed-phase column( $C_{18}$ ), 150\*6. Omm, Mobile: methanol-water (58:42); Flow rate, 0.98ml/min; UV monitor at 218nm; Pressure drop: 148 kg/cm<sup>2</sup>. Sequence of elution, (1) Somalin, (2) K-strophanthoside, (3) K-strophanthin- $\beta$ , (4) Cymarim(internal standard).

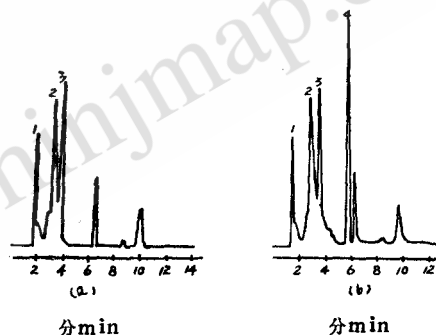


Fig. 2. Chromatography of cardiac glycosides in Adonis Pseudoamurensis (Conditions asin Fig. 1.)

a) without an internal standard b) with an internal standard Sequence of elution, (1) somalin, (2) kstrophanthoside, (3) k-strophanthin- $\beta$ , (4) cymarim (internal standard).

由图 2 及表 1 可知, 辽吉侧金盏花中主要含索马林(Somalin)、K-毒毛旋花子甙(K-Strophanthoside)和K-毒毛旋花次甙- $\beta$ (K-Strophanthin- $\beta$ )

Table 1 Relative retention time (RRT) of cardiac glycosides

| sequence | cardiac glycosides | RRT               |                 |
|----------|--------------------|-------------------|-----------------|
|          |                    | standard solution | sample solution |
| 1        | somalin            | 0.284±0.001       | 0.284±0.001     |
| 2        | k-strophanthoside  | 0.518±0.001       | 0.518±0.001     |
| 3        | k-strophanthin-β   | 0.625±0.001       | 0.625±0.001     |

## 二、校正曲线和检测限

以强心甙标准品峰面积及内标峰面积为Y轴，以进样量为X轴，绘制强心甙及内标物的校正曲线(图3)。其回归方程如表2所示。

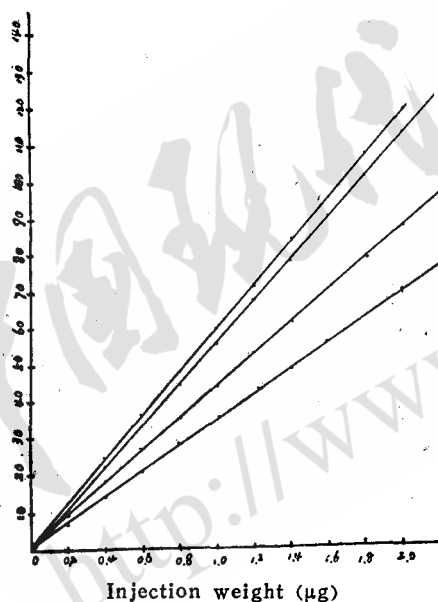


Fig. 3. Calibration graphs of some cardiac glycosides

由图3及表2可知，在0~2.0 μg范围内三种强心甙标准品及内标物(加拿大麻甙)的峰面积与其进样量存在良好的线性关系。

用218 nm作为强心甙紫外检测波长，当信噪比为10:1时，检测下限为200 ng。

Table 2 Equation of the least-squares regression

$$y = a + bx$$

| cardiac glycoside | a      | b     | r <sup>2</sup> |
|-------------------|--------|-------|----------------|
| somalin           | 0.218  | 60.56 | 0.9999         |
| k-strophanthoside | 0.579  | 35.82 | 0.9998         |
| k-strophanthin-β  | 0.937  | 44.86 | 0.9997         |
| cymarlin          | -0.868 | 56.69 | 0.9999         |

r<sub>1</sub> 相关系数

## 三、辽吉侧金盏花根中强心甙含量的测定

内标法定量结果列在表3中。虽然样品中2号峰与3号峰未完全分开，但使用微处理机处理色谱峰，不影响定量的准确性。

Table 3 The contents of cardiac glycosides in Adonis Pseudoamurensis root

| cardiac glycoside | content (%) |
|-------------------|-------------|
| somalin           | 0.024±0.003 |
| k-strophanthoside | 0.13±0.01   |
| k-strophanthin-β  | 0.071±0.005 |

## 讨 论

1. 本文采用室温冷浸溶剂萃取法在防止原生甙水解方面是成功的，这已在同属其它植物的强心甙测定中得到证实。因此，本文在辽吉侧金盏花中发现的三种强心甙均为原生甙。

2. 除索马林外，其余两种为该植物中新发现的强心甙。

3. 索马林、K-一毒毛旋花子次甙-β及K-一毒毛旋花子甙的生物学活性均很强<sup>[8]</sup>，因此，辽吉侧金盏花作为强心药的资源很有开发价值。

**致谢** 东北师范大学生物系张文仲教授为本实验使用的辽吉侧金盏花进行了鉴定,在此表示谢意。

### 参 考 文 献

- [1] 中国科学院植物研究所编, 中国植物志北京, 科学出版社, 1980, 28:246
- [2] 杨学敏等, 中草药 1983, 14(3):43
- [3] 马冰如等, 白求恩医科大学学报 1985, 11(4): 371

- [4] 迟立国等, 药学报 1988, 23(2):91
- [5] Patnaik CK, et al., Arzneim Forsch 1978, 28:1368
- [6] Vatner SF, et al, J., Clin Invest 1971, 50:2585
- [7] Davydov V. Ya., et al, J. Chromatogr. 1981, 204:293
- [8] Davydov V. Ya., et al, J. Chromatogr. 1982, 248:49

## Isolation and Determination of Some Cardiac Glycosides from *Adonis Pseudoamurensis* by High-performance Liquid Chromatography

Gu Xuelin      Feng Suxiang

(Harbin University of Medical Sciences)

Ma Bingru      Shi Yue

(Bethune University of Medical Sciences)

### Abstract

When methanol-water as mobile phase was used, cardiac glycosides from *Adonis Pseudoamurensis* were separated and quantitatively determined on ODS reversed-phase columns. We discovered K-strophanthoside, k-strophanthin- $\beta$  and Somalin that have higher biological activity in *Adonis Pseudoamurensis*. The contents of k-strophanthoside, k-strophanthin- $\beta$  and Somalin are respectively  $0.3 \pm 0.01\%$ ,  $0.071 \pm 0.005\%$  and  $0.024 \pm 0.003\%$ .

**Key wards** *Adonis Pseudoamurensis* Cardiac glycoside High-performance Liquid Chromatography