

异无显著性,且两两交互作用影响差异也不显著。

2.2.4 配伍规律:麻黄汤各组方配伍,对佐药苦杏仁的主要效应成分苦杏仁苷的影响具有一定的规律性。从表2可以看出:当麻黄与苦杏仁配伍时,麻黄可增加汤剂中苦杏仁苷的含量,但影响不显著,相应苦杏仁亦增加麻黄碱的含量^[1],提示麻黄与苦杏仁的配伍可增强药效,佐药苦杏仁与君药麻黄配伍是合理的,与中医组方理论的相须、相使配伍一致;当甘草与苦杏仁配伍时,甘草可降低汤剂中苦杏仁苷的含量,但影响差异不显著,提示甘草可通过降低苦杏仁苷的含量而降低苦杏仁的毒性,从而起到调和药性,降低毒性的作用;而桂枝与苦杏仁配伍,对苦杏仁苷几乎没有影响。统计分析结果表明:麻黄、桂枝、甘草对麻黄汤中苦杏仁苷含量影响差异没有显著性,且两两交互作用不显著。

2.2.5 关于新物质:在本实验条件下,各组合配伍没有发现新物质色谱峰。

3 讨论

3.1 测定方法选择:《中华人民共和国药典》2000年版一部采用滴定方法间接测定苦杏仁中苦杏仁苷含量,操作烦琐,灵敏度低。针对中药复方汤剂中成分复杂的情况,本实验采用反相高效液相色谱法有效地分离了复方中的各成分,复方中其他成分对苦

杏仁苷测定无干扰,该法简便、准确、灵敏,可作为苦杏仁药材及其制剂的质量监控方法。

3.2 流动相选择:曾以不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水作为流动相,结果发现流动相中加入乙腈峰形变差,而甲醇-水体系中苦杏仁苷的峰形好,故选择甲醇-水为流动相。

3.3 柱温选择:曾将柱温设置为25、30、35,发现柱温在25时,缺苦杏仁阴性对照溶液干扰严重,提高柱温,可改变苦杏仁苷和干扰成分的选择性,当柱温为35,苦杏仁苷和干扰成分可达到基线分离,复方中其他成分对苦杏仁苷测定无干扰。

3.4 药材与取样:针对中药材粗细大小不一、组份在药材中含量不均的情况,本实验除了对药材进行剪切、捣碎等必要的处理,鉴于单付处方剂量小,引入误差大,还采用了每次煎煮3付药,增加了取样量,降低了药材不匀的误差,使取样更具代表性,水煎液制备的平行性更高,使测定结果更准确地反映出配伍因素引起的化学变化。

References

- [1] Li J L, Chen F L, Liu C M, *et al*. Determination of ephedrine and pseudoephedrine in MAHUANG TANG by GC-MS and effect of compatible medicinal herbs on concentration of components in decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 307-309.

阿克苏黄芪中多糖成分的分析

赵文¹, 黄亚东¹, 任永凤², 许华¹, 郑青^{1*}

(1. 暨南大学 医药生物技术研究开发中心, 广东 广州 510632;

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002)

摘要:目的 分析阿克苏黄芪中多糖的组份及含量。方法 利用纸色谱分析了多糖组份并采用分光光度法测定了多糖含量。结果 阿克苏黄芪多糖的组成为葡萄糖, 生药中多糖含量为2.10%。结论 阿克苏黄芪中所含多糖为葡聚糖。同时测得其相对分子质量为 5.7×10^4 。

关键词: 阿克苏黄芪; 多糖; 分光光度法

中图分类号: R284.1; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)03-0271-03

Analysis of polysaccharide in *Astragalus aksuensis*

ZHAO Wen¹, HUANG Ya-dong¹, REN Yong-feng², XU Hua¹, ZHENG Qing¹

(1. Bipharmaceutical Research and Development Center of Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830002, China)

Key words: *Astragalus aksuensis* Bunge; polysaccharide; spectrophotography

收稿日期: 2003-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39660082)

作者简介: 赵文(1962—), 女, 副研究员, 主要从事植物化学、天然药物和药物化妆品的研究。

阿克苏黄芪 *A stragalus aksuensis* Bunge 为豆科紫云英属植物,产于我国新疆境内的阿克苏地区,取其根入药^[1],具有补气固表、托疮生肌等功能。以往的研究发现它具有一定的抗病毒及增强免疫力作用^[2,3]。本实验研究了其中多糖成分,测定了阿克苏黄芪中多糖的含量、相对分子质量,为阿克苏黄芪的药用提供一定的科学依据。

1 仪器与材料

UV—200 紫外分光光度计,UV—1 型三用紫外分析仪,UV 2501(PC)。

DNS 溶液(称取 666 mg 重结晶的 3,5-二硝基水杨酸溶解于 200 mL 1 mol/L 氢氧化钾溶液),所用试剂均为分析纯。葡萄糖、鼠李糖、岩藻糖、半乳糖、甘露糖、木糖、阿拉伯糖对照品由华中科技大学药物研究所提供。阿克苏黄芪采自新疆阿克苏,经新疆药物研究所张彦福研究员鉴定系阿克苏黄芪 *A . aksuensis* Bunge。蒙古黄芪 *A . membranaceus* (Fisch.) Bge var *mongolicus* (Bge.) Hsiao 由大同市药品检验所中药室提供。

2 多糖的提取分离及纯化

取粉碎后的阿克苏黄芪粗粉 10 g,依次用石油醚、乙醚脱脂,晾干,加水浸泡过夜,100 ℃ 水浴,提取 3 次(3 × 100 mL),合并滤液,浓缩至药材与药液质量体积比为 1 : 2,离心,上清液加 5 倍体积乙醇,冰箱内静置 24 h,离心,沉淀用少量水溶解,用 Sevag 试剂去除游离蛋白,溶液加 5 倍体积乙醇,静置过夜,滤过,沉淀用少量水溶解,经 Sephadex G-200 凝胶柱色谱分离,检测为单一峰,收集样品,真空干燥,得一黄白色多糖。

3 多糖鉴定

3.1 相对分子质量的测定:称取 0.100 3 g 多糖放入试管,加 DNS 溶液 15 mL,在 65 ℃ 恒温水浴中保温 1 h,并不断搅拌使溶解。冷却至室温后,将反应液定量移入 50 mL 量瓶,用蒸馏水加至刻度,同时以 DNS 液为空白,以乳糖为参比物,于 490 nm 处测定吸光度^[2],由公式相对分子质量 = 多糖质量/单位吸光度对应质量计算得其相对分子质量约为 5.7×10^4 。

3.2 组成分析:称取 10 mg 多糖,溶于 2 mL 1.0 mol/L 硫酸溶液,封管,100 ℃ 水解 6 h,切开封管,用碳酸钡中和,滤过,滤液浓缩后供点样用。所得供试品溶液与葡萄糖、鼠李糖、岩藻糖、半乳糖、甘露糖、木糖、阿拉伯糖对照品溶液同时进行纸色谱分离,展开剂分别为正丁醇-醋酸-水(4 : 1 : 5)和异丙

醇-浓氨水-水(6 : 4.5 : 0.5),以苯胺-邻苯二甲酸为显色剂。由纸色谱图可看出样品为单一的葡萄糖。

4 多糖含量测定

4.1 苯酚溶液的制备:取苯酚 100 g,加铝片 0.1 g 和碳酸氢钠 0.05 g,蒸馏,收集 182 馏份。称取此馏份 5 g,加 95 mL 蒸馏水,置棕色瓶中,得 5% 苯酚试液。

4.2 测定波长的选择:精密称取一定量多糖样品置小烧杯中,加水溶解,定量转移至 100 mL 量瓶中,加水至刻度,混匀。吸取该样品 2 mL 于具塞试管中,加 5% 苯酚试液 1 mL,摇匀,迅速加 5 mL 浓 H₂SO₄,振摇后,置沸水浴加热 15 min,取出置冷水中冷却,以苯酚-硫酸溶液为空白,于 UV 2501 (PC) 上 400~800 nm 扫描,结果选择测定波长 488 nm。

4.3 标准曲线的绘制:精密称定 105 干燥至恒重的葡萄糖 25 mg 于小烧杯中,加水溶解并定量移至 100 mL 量瓶中,稀释至刻度,混匀,得 0.25 mg/mL 的对照品溶液。分别精密吸取该溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL 于 50 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度,得到一系列浓度的对照品溶液。分别吸取上述对照品溶液各 2 mL 于具塞试管中,加 5% 苯酚试液 1 mL,摇匀,迅速加浓硫酸 5 mL,振摇后,放置于沸水浴中加热 15 min,取出置冷水中冷却。以苯酚-硫酸溶液为空白,于 488 nm 处测吸光度,经回归得线性方程 $A = 0.0063442C - 0.0013023$, $r = 0.9988$,线性范围 1.25~7.5 μg/mL。

4.4 换算因素的测定^[4]:精密称取多糖 5 mg 于 10 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,精密吸取该溶液 2 mL 置 50 mL 量瓶中,按标准曲线项下自“吸取溶液 2 mL 于具塞试管中”起测定吸光度,按下式计算换算因素,测得换算因素 $f = 1.089$ 。

$$f = m / C$$

m 为多糖质量(μg), C 为多糖溶液中葡萄糖的量(μg)

4.5 样品中多糖的含量测定:精密量取 20 mL 样品定量转移至 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,混匀,得供试品溶液。吸取该溶液 2.0 mL 于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,吸取该溶液 2 mL 于具塞试管中,按标准曲线项下方法操作,以苯酚-硫酸溶液为空白,在 490 nm 处进行测定,按下式计算多糖含量,结果见表 1。同法测定了蒙古黄芪中多糖,含量为 4.01% ($n = 3$)。

$$\text{多糖含量} = fC/dm \times 100\%$$

f 为换算因素, C 为供试品溶液中葡萄糖含量, m 为供试品质量, d 为稀释倍数

表 1 阿克苏黄芪中黄芪多糖含量测定结果 (n= 3)

Table 1 Content of polysaccharide in *A. aksuensis* (n= 3)

样 品	多糖含量/%
1	2.29
2	2.27
3	2.31
4	2.26
5	2.27

5 讨论

5.1 本实验采用端基法来测定样品中所含可测端基数,由质量计算出样品的相对分子质量。

5.2 本实验中所提取的阿克苏黄芪多糖,经检定为葡聚糖,含量仅 2.28% (n= 3),显著低于蒙古黄芪

中多糖含量。

References:

- [1] Xinjiang Institute of Biology Soil and Desert, Chinese Academy of Sciences *Xinjiang Flora of Medicament and Plant* (新疆药用植物志) [M]. 3rd ed. Urumqi: Xinjiang People's Press, 1984.
- [2] Zhang W J. *Research Technique of Compound Polysaccharide* (复合多糖生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [3] Yang F Z, Xie H M. Determination of polysaccharide in christina loosestrife herb by spectrophotography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (Suppl): 97-98.
- [4] Cheng Y X, Zhang Z S. Problem and solution of determination of polysaccharide in *A stragalus* [J]. *Res Tradit Chin Med* (中医药研究), 1993 (5): 56-58.

茯苓萜类的高效液相色谱指纹图谱研究

杨 冉¹, 李建军¹, 屈凌波¹, 相秉仁², 安登魁^{2*}

(1. 郑州大学 化学系, 河南 郑州 450052; 2. 中国药科大学 分析中心, 江苏 南京 210009)

摘 要: 目的 建立茯苓三萜化合物的指纹图谱。方法 反相高效液相色谱法。结果 道地药材茯苓及不同地区收集的市场商品具有相当稳定的、相似程度很高的指纹图谱。结论 可利用液相色谱的特征峰控制茯苓及其制剂的质量。

关键词: 茯苓; 高效液相色谱; 指纹图谱

中图分类号: R 284.1

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)03-0273-03

Studies on fingerprint of terpenoid in *Poria cocos* by HPLC

YANG Ran¹, LI Jian-jun¹, QU Ling-bo¹, XIANG Bing-ren², AN Deng-kui²

(1. Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Center of Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: *Poria cocos* (Schw.) Wolf; HPLC; fingerprinting

茯苓为多孔菌科植物茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 具有渗湿利尿、和胃健脾、宁心安神、增强机体抗病能力的功效。其主要化学成分为多糖、三萜、脂肪酸、甾醇、酶等。中外学者对茯苓的化学成分及生物活性进行研究, 发现其所含的大量三萜类物质具有免疫调节、抗肿瘤、拮抗鞣固酮, 诱导分化白血病细胞系 HL-60 等很好的药理活性^[1-4]。建立茯苓三萜类的分析测定体系对于茯苓药材内在质量的控制具有重要意义, 但鉴定单一的化学成分不能代表其特有的功效, 也不能全面地反映其内在质量。研究表明, 其甲醇提取物具有很好的药理活性。本实验着重对不同产地茯苓的甲醇提取物进行

了液相色谱指纹图谱的比较研究, 以探求其呈现的特征峰群, 为茯苓中药材的鉴定和质量控制提供科学依据。

1 材料与仪器

茯苓药材为安徽、湖北、河南、四川、浙江等市场商品, 共 9 个样品, 经鉴定均为多孔菌科真菌茯苓 *P. cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核。

Water 1100 型液相色谱仪, DAD 检测器, 数据处理工作站。

2 方法

2.1 色谱条件: 色谱柱: TSK gel ODS—80 C₁₈ (150 mm × 4 mm, 4.5 μm); 流动相: 甲醇水溶液进行梯

* 收稿日期: 2003-06-10

作者简介: 杨 冉(1976—), 女, 河南西峡县人, 郑州大学化学系研究生, 主要进行中药质量控制和分析研究。