

- [3] 韩刚,王晓雁,王艳楠,等. 中药姜黄不同提取部位对姜黄素稳定作用[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(9): 21-23.
- [4] 王玫,胡文言,王慕白. HPLC法测定中药莪术中3种姜黄素的含量[J]. 药学学报, 1999, 34(6): 467-469.
- [5] 赵欣,袁丹,孔令峰,等. 国产姜黄药材质量比较研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(4): 224-228.
- [6] 刘硕谦,刘仲华,黄建安,等. 反相高效液相色谱法同时测定姜黄药材中3个组分的含量[J]. 分析化学, 2005, 33(3): 309-312.
- [7] Wang YJ, Pan M H, Cheng A I, et al. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1997, 15(12): 1867-1870.

## 黄姜总皂苷不同提取物的 FTIR 谱图特征分析

张黎明<sup>1</sup>, 王亮亮<sup>1</sup>, 高文远<sup>2\*</sup>

(1. 天津科技大学生物工程学院 工业微生物教育部重点实验室, 天津 300457;

2. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

**摘要:**目的 研究不同提取工艺所得黄姜总皂苷提取物的差异。方法 利用分光光度法和傅里叶变换红外光谱(FTIR)法对不同工艺的提取物进行成分对比和图谱分析。结果 不同提取方法(乙醇回流法、水煎回流法、超声波辅助乙醇法),不同精制方法(D-101大孔吸附树脂法、ZTC澄清剂法、正丁醇萃取法),不同乙醇体积分数(30%、50%、70%、90%)的提取物中薯蓣皂苷元的量不同。FTIR法分析其所含成分种类和量各不相同,在红外谱图上存在明显的差异。结论 采用乙醇回流法提取,D-101大孔吸附树脂法纯化,50%乙醇洗脱效果最好。

**关键词:**黄姜总皂苷;提取工艺;分光光度法;FTIR

**中图分类号:**R284.2; R286.02

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2009)09-1413-04

黄姜 *Dioscorea zingiberensis*. C. H. Wright, 又名盾叶薯蓣,是我国提取薯蓣皂苷元的主要植物,也是生产甾体激素类药物的主要药物资源。近年来,由于薯蓣皂苷元市场供求不平衡,市场价格大起大落,造成资源的极大浪费。黄姜皂苷具有多种生物活性。因此,为了更好地利用黄姜的药用价值,应该从单一的提取薯蓣皂苷元向多方面转变。红外光谱技术能够获得宏观整体信息,能够达到方便快捷、准确有效的分析目的,红外光谱法正越来越多地应用于中药质量的鉴别、控制<sup>[1-4]</sup>。所以,本实验采用分光光度法和傅里叶变换红外光谱(FTIR)法对不同提取工艺所得提取物进行定量分析和定性鉴定,得到很好的效果。

### 1 仪器和材料

UV-2000紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司),德国布鲁克仪器公司的VECTOR 22型傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy):中红外光源,DTGS检测器,检测范围4 000~400 cm<sup>-1</sup>,光谱分辨率4 cm<sup>-1</sup>,OPD扫描速度0.2 cm/s,扫描次数为16次,扫描过程中实时扣除水和CO<sub>2</sub>的干扰影响。薯蓣皂苷元对照品(中

国药品生物制品检定所)。

### 2 方法与结果

2.1 黄姜皂苷提取与精制:分别采用6倍量60%乙醇60 回流提取3次,每次2 h;6倍量60%乙醇40 在40 kHz、100 W超声波辅助提取3次,每次30 min;8倍量90 水煎回流提取3次,每次2 h;将以上3种方法所得的提取液经过滤、离心得上清液,上清液浓缩至无乙醇,得到浓缩液。将所得的浓缩液以1.0 mL/min上处理好的D-101大孔吸附树脂柱,过柱液重吸附一次,充分吸附后用水洗脱除去杂质,后用50%乙醇洗脱,所得洗脱液浓缩得到待测干品。

采用6倍量60%乙醇60 回流提取3次,每次2 h,所得提取液浓缩后,将浓缩液分别采用D-101大孔吸附树脂法、ZTC型1+1澄清剂和正丁醇萃取法处理,所得处理液浓缩干燥得到待测干品。

采用2.1中乙醇回流提取法相同处理,将所得浓缩液分别上处理好的四棵D-101大孔吸附树脂柱,过柱液重吸附一次并充分吸附后用水洗脱除去杂质,分别用30%、50%、70%、90%乙醇洗脱,所得洗脱液分别浓缩,得到待测干品。

\* 收稿日期:2008-10-16

基金项目:天津市应用基础及前沿技术研究计划重点项目(08JCZDJ C15300)

作者简介:张黎明(1963—),男,山西省清徐县人,副教授,博士,主要从事天然药物的研究与开发工作。

Tel:(022)60601265 E-mail:zhanglmd@yahoo.com.cn

## 2.2 皂苷元的测定

2.2.1 绘制标准曲线<sup>[5]</sup>:精确称取 60 干燥至恒重的薯蓣皂苷元对照品 7.5 mg,加石油醚定容,得 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对照品溶液备用。准确吸取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL 对照品溶液于比色管中,105 烘干后,加入 5 mL 高氯酸于比色管中,将比色管放入水浴锅中,25 水浴保温 25 min 后,以高氯酸空白为对照,于 410 nm 处,测吸光度(A)。以皂苷元质量为横坐标,A 值为纵坐标,绘制标准曲线,求得回归方程  $Y = -0.00344 + 0.04507X$ ,  $r = 0.9998$ ,线性范围:0~27  $\mu\text{g}$ 。

2.2.2 测定:采用分光光度法对以上所得干品中的皂苷元进行定量分析。取干品,精确称取一定量,用 80%乙醇定容后,吸取一定量于比色管中,按照上述方法测量。

2.3 FTIR 分析:采用 KBr 压片法。取 60 干燥至恒重的样品,玛瑙研钵粉碎后,精确称取 2.0 mg 样品与 150 mg KBr 混合研磨均匀压片,测其红外光谱图。

2.4 不同提取方法的差异:见表 1。由表 1 中可知,不同的提取工艺对提取过程和提取产物有很大的影响。通过对提取物中薯蓣皂苷元的量和颜色的比较,选用乙醇回流提取法和超声波辅助乙醇法提取总皂苷比水煎法效果好。

表 1 不同提取方法比较

提取方法	皂苷元/ %	产物颜色
水煎回流提取	20.87	黄绿色(带黑)
超声波辅助乙醇提取	27.31	黄绿色
乙醇回流提取	27.66	淡红棕色(近白)

由图 1 可知,在官能团区,3 种提取方法所得提取物出现的主要吸收峰,在峰形和吸收强度上相似,但是其峰位置有大的差别。水煎回流提取物和乙醇回流提取物在 3420  $\text{cm}^{-1}$  左右出现的-OH 的伸缩振动和 2930  $\text{cm}^{-1}$  左右的 C-H 伸缩振动在吸收峰波数和吸收强度上相近,超声波辅助乙醇提取法在-OH 的伸缩振动在波数上有 16  $\text{cm}^{-1}$  的差别,说明在-OH 的存在形式上有一定的不同。在 1715  $\text{cm}^{-1}$  附近为 C=O 伸缩振动,乙醇回流提取物有比较弱的 C=O 吸收峰,而水煎回流提取物和超声波辅助乙醇提取物的 C=O 吸收峰明显,特别是水煎回流提取法其吸收强度最大。在 1650  $\text{cm}^{-1}$  左右为 C=C 伸缩振动,三者相互之间有 10  $\text{cm}^{-1}$  的差别,由于 C=C 与 C=O 或 C=C 存在共轭时,C=C 吸收向低频率方向移动,说明 3 种提取物在成分上存

在差别。1615、1517、1455  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰的存在为苯环的骨架振动,3 种谱图中以水煎法吸收强度最大。1379  $\text{cm}^{-1}$  左右为甲基的 C-H 弯曲振动,其吸收强度同 1455  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰的强度的比例,超声波法提取物比例最小,乙醇回流提取物比例最大,说明 3 种提取物成分之间存在差别。指纹区(1300~400  $\text{cm}^{-1}$ ),在 1300~1000  $\text{cm}^{-1}$  3 种提取物谱图中为一个宽高峰,水煎回流提取物和超声波辅助乙醇提取物存在 1273、1243、1153、1049  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰,乙醇回流提取物为 1260、1073、1049  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰。吸收峰不同且前 2 种提取物吸收较多,1073  $\text{cm}^{-1}$  处 C-O 键的吸收峰没有乙醇回流提取物明显,可见 3 种提取物之间在成分上呈现出较大差别。在 1000~400  $\text{cm}^{-1}$ ,水煎回流提取物和超声波辅助乙醇提取物比乙醇回流提取物在红外谱图上呈现较多的吸收峰,如在 905  $\text{cm}^{-1}$  左右,水煎法和超声波法呈现明显的双弱峰,乙醇法不是很明显。很显然前两种提取物在成分上比乙醇回流提取法提取物复杂,在红外谱图上呈现比较多的吸收峰。表明对 3 种不同提取方法提取物红外谱图的官能区和指纹区以及整体分析,不同的提取方法对提取的工艺有很大的影响,同时也能在红外谱图得到明显而准确的体现。

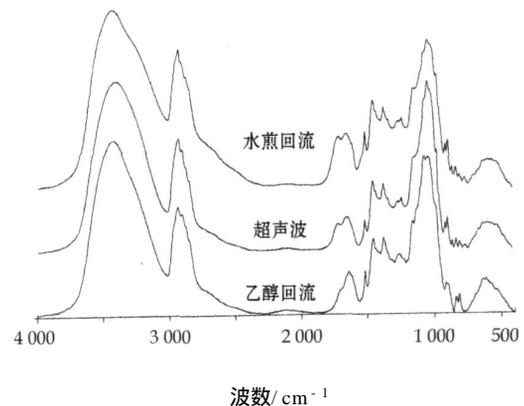


图 1 不同提取物红外谱图

Fig 1 Infrared spectrum of different extracts

2.5 不同精制方法的差异:见表 2。可知,3 种精制方法提取物中薯蓣皂苷元的量不同。树脂法产物中薯蓣皂苷元的量最高;正丁醇萃取物中薯蓣皂苷元的量比较低,只有树脂法的一半;澄清剂法提取物中薯蓣皂苷元的量很低,其只能作为一种简单的除去部分杂质的方法。从产物的外观颜色上判断树脂法提取物为淡红棕色近白;正丁醇萃取物为深红褐色,是由于正丁醇的残留和大量色素的存在而显红褐色;澄清剂法产物为红棕色,由于大量杂质和色素存

在而显红棕色。由此表明,不同的精制方法对精制过程和提取产物有很明显的影响。通过上面薯蓣皂苷元的量和颜色的比较,选用 D-101 大孔吸附树脂法精制总皂苷比其他两种方法效果好。

表 2 不同精制方法比较

精制方法	皂苷元/ %	产物颜色
D-101 大孔吸附树脂	27.66	淡红棕色(近白)
ZTC 型 1+1 澄清剂	8.21	红棕色
正丁醇萃取	14.55	深红褐色

由图 2 可知,在官能团区,3 种精制方法所得提取物出现的主要吸收峰在峰形波数和吸收强度上存在很大的差别。从峰形整体来看 3 种提取物的红外谱图有很大的差异。树脂法提取物-OH 的伸缩振动吸收为  $3423\text{ cm}^{-1}$ ,澄清剂法和正丁醇萃取法提取物在  $3405\text{ cm}^{-1}$  附近,与前面存在  $18\text{ cm}^{-1}$  的差别。三者的吸收强度相差大,澄清剂法提取物由于多糖的残留-OH 的吸收最强,正丁醇萃取物在此吸收强度很小。表明在成分上有很大的差别。在  $2962\sim 2853\text{ cm}^{-1}$  的甲基和亚甲基的 C-H 伸缩振动上,正丁醇萃取物在此吸收峰比较明显,树脂法和澄清剂法提取物由于峰的重叠使得甲基和亚甲基的 C-H 伸缩振动吸收没有分开,由此也说明正丁醇萃取物与树脂法和澄清剂法提取物在成分上有区别。在  $1729\text{ cm}^{-1}$  左右为 C=O 伸缩振动吸收,树脂法提取物的 C=O 吸收很弱,正丁醇萃取物和澄清剂法提取物的 C=O 吸收很强,同时  $1615$ 、 $1517$ 、 $1455\text{ cm}^{-1}$  为苯环的骨架振动,其吸收强度以正丁醇最高,树脂法最低。在  $1680\sim 1620\text{ cm}^{-1}$  的 C=C 伸缩振动吸收,萃取法、树脂法、澄清剂法提取物分别为  $1665$ 、 $1641$ 、 $1635\text{ cm}^{-1}$ ,相互之间存在  $15\text{ cm}^{-1}$  左右的差别,由于 C=C 与环结构或 C=C 或 C=O 的共轭时会产生波动,其结构的差别就是成分的差别。指纹区( $1300\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ),在  $1300\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ ,树脂法和澄清剂法提取物另为一宽高峰,峰形相似,但是树脂法吸收峰比较明显,其成分比较明确,澄清剂虽成分与树脂法相似,由于除杂少成分比较多使得吸收峰重叠。正丁醇法与以上两个提取物区别较大,其吸收峰比较多并且峰形有很大的区别,其在成分上与以上两者有很大的区别。在  $1000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ,3 个提取物的红外吸收峰也有很明显的区别,说明 3 个提取物在成分上有不同。以上表明,通过对 3 种精制方法提取物红外谱图的官能区和指纹区以及峰形整体分析,不同的精制方法对提取物同样有很大的影响,在红外谱图上能够得

到明显而准确的体现。

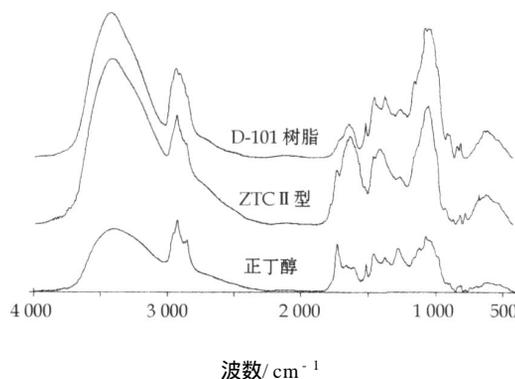


图 2 不同精制产物红外谱图

Fig 2 Infrared spectrum of different extracts

2.6 不同乙醇体积分数洗脱差异:见表 3。表 3 表明,采用不同体积分数乙醇洗脱产物中 30%乙醇洗脱物中薯蓣皂苷元的量最低,不到其他产物的一半;随着乙醇洗脱体积分数的提高,薯蓣皂苷元的量增幅很大,之后变化不大,仍然是 50%乙醇洗脱物中薯蓣皂苷元的量最高。90%乙醇洗脱物中薯蓣皂苷元的量与 50%乙醇洗脱物中量基本相同,但从节省成本上看,采用 50%乙醇洗脱为佳。从颜色上看 4 种洗脱物颜色由浅到深依次为 50%、70%、90%、30%乙醇,颜色越深色素的量越高。表明,采用 50%乙醇作为洗脱剂比其他好。

表 3 不同体积分数乙醇洗脱物比较

Table 3 Comparison of different substances at eluting concentration

乙醇洗脱体积分数/ %	皂苷元/ %	产物颜色
30	11.85	红棕色
50	27.66	淡红棕色(近白)
70	23.21	淡红棕色
90	27.10	淡红棕色

由图 3 可知,4 种乙醇洗脱物的红外谱图有一定的相似,特别是后 3 种洗脱物的红外谱图。在官能团区,-OH 的伸缩振动吸收峰存在  $10\text{ cm}^{-1}$  差别,其在成分上有一定的区别。在 C-H 伸缩振动吸收上,吸收波数上没有区别,只是在强度上 30%乙醇洗脱物比较小,而其他 3 个洗脱物吸收强度基本相当。在  $1715\text{ cm}^{-1}$  附近 C=O 伸缩振动吸收上,吸收波数有  $5\text{ cm}^{-1}$  的差别;而在吸收强度上,50%乙醇洗脱物吸收较小,其次为 70%、90%乙醇洗脱物,30%乙醇洗脱物吸收最强、最明显。在苯环的骨架吸收上也是 30%洗脱物最强。在 30%乙醇洗脱物中还可以明显的看到  $1420\text{ cm}^{-1}$  吸收,其强度高于  $1378\text{ cm}^{-1}$  C-H 弯曲振动吸收,其他 3 个洗脱物没有此明显的吸收。指纹区( $1300\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ),

1 300 ~ 1 000  $\text{cm}^{-1}$  存在一个大的宽高吸收, 30% 乙醇洗脱物在此吸收峰形和吸收强度与其他 3 个洗脱物有明显不同, 后 3 个乙醇洗脱物吸收峰形和吸收强度基本相同。在 1 000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$ , 仍然是 30% 乙醇洗脱物在此吸收峰形和波数上有明显的不同之处, 后面 3 个乙醇洗脱物吸收峰形上近乎相同。以上分析多处表明, 30% 乙醇洗脱物无论在官能区还是在指纹区其吸收有明显不同之处, 表明其成分与 3 个乙醇洗脱物成分上有大的区别。同时 3 个乙醇洗脱物的整体峰形、吸收峰波数及强度上都近乎相同, 说明在成分及其各成分上没有大的区别, 只是在颜色上逐渐变深但是差别不大。由此采用 50% 乙醇作为洗脱剂较好。由此表明, 通过用不同体积分数乙醇所得提取物红外谱图的官能区和指纹区以及整体分析, 洗脱剂体积分数对提取物有影响, 其能在红外谱图上能够得到相应的体现。

### 3 结论

不同提取和精制方法提取物中薯蓣皂苷元的量比较, 表明采用乙醇回流法提取, D-101 大孔吸附树脂精制产物中薯蓣皂苷元的量最高, 能够达到很好的效果。

采用不同体积分数乙醇洗脱, 50% 乙醇洗脱物中薯蓣皂苷元的量高、色素少, 洗脱效果好。

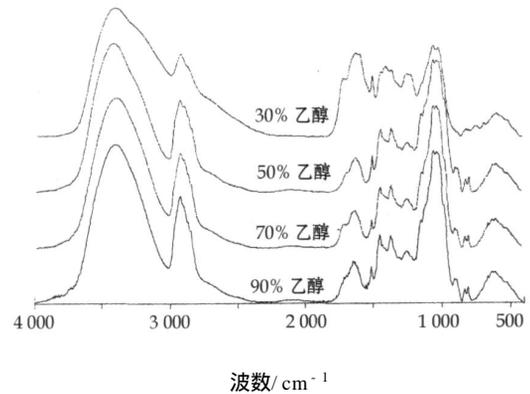


图 3 不同洗脱物红外谱图

Fig 3 Infrared spectrum of different eluting substance

通过 FTIR 对不同提取方法、精制方法和不同体积分数乙醇洗脱所得提取物红外图谱分析, 说明不同工艺所得产物的差异能够在红外图谱上得到很好的呈现。

#### 参考文献:

- [1] 潘艳丽, 张贵君, 孙素琴. 黄金菊粉针药效组分红外指纹表征分析[J]. 中成药, 2006, 28(2): 172-175.
- [2] 孙素琴, 周群, 秦竹, 等. FT-IR 和 FT-Raman 与中药的质量控制[J]. 光散射学报, 2003, 15(3): 203-207.
- [3] 赵琳, 郭志刚, 刘瑞芝, 等. 肉苁蓉药材与盐生肉苁蓉培养细胞的主要成分对比研究[J]. 中草药, 2004, 35(7): 814-817.
- [4] 肖璞, 孙素琴, 周群, 等. 不同厂家葡萄酒的红外光谱无损快速分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1352-1354.
- [5] 王俊, 杨克迪, 陈钧. 分光光度法测定薯蓣皂苷元[J]. 分析试验室, 2004, 23(1): 73-75.

## HPLC 法测定降酶片中白藜芦醇和虎杖苷

刘德茂<sup>1</sup>, 史德胜<sup>2\*</sup>

(1. 大连公安医院, 辽宁 大连 116011; 2. 天津丹溪国药研究所, 天津 300061)

降酶片由虎杖、白花舌蛇草等中药组成。虎杖为蓼科属多年生草本植物, 药用部位为根及根茎。虎杖始载于《名医别录》, 列为中品, 具有祛风利湿、散瘀定痛、止咳化痰等功效; 用于关节痹痛, 湿热黄疸, 经闭, 微瘕, 水火烫伤, 跌扑损伤, 痈肿疮毒, 咳嗽痰多。虎杖中主要含蒽醌类、二苯乙烯苷类、黄酮类等多酚性化合物。本实验采用 HPLC 法测定其中的白藜芦醇和虎杖苷, 方法专属性强, 操作简便, 精密度高, 重现性好, 能更好地控制降酶片的质量, 为降酶片的质量标准的制定提供依据。

### 1 仪器与试剂

UV2000 高效液相色谱仪; SP8800ternary

HPLC Pump (Spectra-Physics); 虎杖苷 (批号 11575-200301)、白藜芦醇对照品 (批号 111535-200301) 由中国药品生物制品检定所提供。降酶片由大连公安医院制剂室提供, 批号 060820、060821、060822。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: Irregular C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (25 : 75); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 ; 检测波长: 306 nm; 进样量: 20 μL。理论塔板数以虎杖苷峰计不低于 3 000, 以白藜芦醇峰计不低于 3 000。

### 2.2 溶液的制备