

表 1 国内常见菊花品种含量测定结果 (n= 3) (%)

样品 (产地)	金合欢素 -7-Oβ -	芹菜素 -7-Oβ
	D 葡萄糖苷	-D 葡萄糖苷
亳菊 (安徽亳州)	0.124 9	0.027 4
滁菊 (安徽全椒)	0.082 6	0.012 6
杭白菊 (浙江桐乡)	0.015 7	0.587 7
贡菊 (安徽歙县金竹岭)	0.033 5	0.117 7
济菊 (山东嘉祥)	0.085 1	0.016 3
祁菊 (河北安国)	0.257 3	0.107 5
野菊 (安徽全椒)	0.016 5	0.044 6
杭黄菊 (浙江桐乡)	0.018 8	0.077 0

表 2 国内主要商品菊花药材含量测定结果 (n= 3) (%)

样品 (市场)	金合欢素 -7-Oβ -	芹菜素 -7-Oβ
	D 葡萄糖苷	-D 葡萄糖苷
亳菊 (安徽亳州市场)	0.126 0	0.013 5
滁菊 (安徽全椒市场)	0.078 9	0.013 6
杭菊 (安徽亳州市场)	0.023 4	0.699 7
贡菊 (安徽亳州市场)	0.035 8	0.124 8

2.6 加样回收试验:称取已测知含量的贡菊粉末 6 份,每份 1 g,分别加入对照品金合欢素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷 (0.18 mg/mL) 1.5, 2.0 mL; 芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷 (0.58 mg/mL) 1.0, 2.0 mL,按样品测定项下方法进行测定,分析,结果平均回收率金合欢素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷为 99.74%, RSD= 0.69% (n= 6); 芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷为 98.48%, RSD= 1.30% (n= 6)

2.7 检测波长的选择:对照品芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷的紫外最大吸收峰为 333 nm,金合欢素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷的紫外最大吸收峰为 324 nm,经实验,选用 333 nm 为检测波长,效果较好。

2.8 稳定性试验:将同一样品溶液 (亳菊),于 1, 2, 3 d 分别测定峰面积,结果金合欢素 -7-Oβ-D 葡萄

糖苷 RSD= 2.53% (n= 3); 芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷 RSD= 2.86% (n= 3)

3 讨论

3.1 样品的制备:曾试用 25 mL 量瓶超声提取,因不同菊花粉末加甲醇后溶胀的残渣体积差别较大,影响提取液体积的变化,因而采用索氏回流提取法,回流 4 h 后,所测化学成分已经提取完全。

3.2 从含量结果分析,亳菊、滁菊中金合欢素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷的含量明显高于芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷,杭菊和贡菊则相反,这可能与菊花的产地有关。亳菊、滁菊产于长江以北,杭菊、贡菊产于长江以南。从济菊与祁菊的结果分析,也有这种趋势。另外,杭白菊与杭黄菊之间差别较大,杭白菊中的芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷比杭黄菊高出近 8 倍,商品杭菊主要来自杭白菊,各商品菊花药材含量与产地菊花品种之间差别很小。

3.3 运用 HPLC 同时测定菊花中金合欢素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷和芹菜素 -7-Oβ-D 葡萄糖苷的含量,分离良好、快速、准确、重现性好,对菊花药材的质量控制,专属性较强,为全面有效地建立菊花药材的质量标准提供了依据。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 (下册) [M]. 上海: 上海科技出版社, 1997.
[2] 张广强, 刘伟, 常广福. 不同产地菊花中挥发油含量测定及 GC 分析 [J]. 中药材, 1990, 13(2): 31-33.
[3] 邢振荣, 马全民, 浓雁书, 等. 不同品种及产地杭菊成分测定 [J]. 中草药, 1992, 23(3): 129-130.
[4] 汪民海. 安徽产三种菊花总黄酮量的比色测定 [J]. 基层中药杂志, 1997, 11(2): 37-38.

RP-HPLC法测定不同部位灵芝中灵芝酸 B 含量

丁平, 张丹雁, 徐鸿华*

(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 测定灵芝中具有苦味的成分灵芝酸 B 在灵芝中不同部位的含量。方法 采用 RP-HPLC 法测定灵芝菌盖的表皮层、木栓层、菌柄、孢子粉、菌盖子实体等部位中灵芝酸 B 的含量。结果 灵芝药材中灵芝酸 B 主要集中在灵芝的表皮部位, 其它部位则较少。结论 为寻找灵芝的有效成分分布规律提供了客观依据。

关键词: RP-HPLC 法; 灵芝; 灵芝酸 B

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)04-0310-03

* 收稿日期: 2000-06-12
基金项目: 广东省科委资助项目 9773003-02-01
作者简介: 丁平 (1965-), 女, 35 岁, 副研究员, 主要从事中药资源及药材质量标准的研究工作。

Determination of ganoderic acid B in different parts of *Ganoderma lucidum*

DING Ping, ZHANG Dan-yan, XU Hong-hua

(College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of TCM, Guangzhou Guangdong 510405, China)

Abstract Object To explore the distribution of the bitter principle ganoderic acid B in different parts of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. **Methods** Ganoderic acid B in epidermis, phellem, stipe, spore and pileus were determined by RP-HPLC. **Results** Ganoderic acid B was found to be mainly concentrated in the entire surface of the basidiocarp, other parts contained much less amount. **Conclusion** Result of the study may provide references for the search of such active principle from this fungus.

Key words RP-HPLC; *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.; ganoderic acid B

灵芝为灵芝科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.及紫芝 *G. japonicum* (Fr.) Lloyd 的干燥子实体^[1,2],应用较多的为赤芝。灵芝无论作为保健品还是药品,其深刻的印象就是灵芝的苦味。据文献^[3]报道灵芝的苦味成分主要是三萜酸类,具有抗组织胺、抗炎的作用,近期研究表明灵芝酸 B 等还具有抗伤害性作用,是灵芝药用功效的主要物质基础之一^[4,5],因此,为了更深入地了解灵芝中三萜酸成分的来源以及分布规律,我们在实验中分离和提取了灵芝的苦味成分。本研究以灵芝中具有苦味作用的灵芝酸 B 为指标,应用 RP-HPLC 法对灵芝不同部位中灵芝酸 B 的含量进行测定,现报道如下:

1 仪器与试剂

LC-10A 高效相色谱仪(日本岛津公司); CLASS-10A 检测器;色谱预柱: E. Merck Lichrospher 100RP-100(4 mm× 4 mm, 5 μ m); 色谱柱: E. Merck Lichrospher (250 mm× 4 mm, 5 μ m); 甲醇为色谱纯,氯仿为分析纯,水为双蒸水。

2 实验部分

2.1 实验材料: 样品为经筛选的日本灵芝菌种进行椴木栽培后,至成熟采收期的灵芝样品,分别为灵芝菌盖的表皮层、木栓层、菌柄、孢子粉、菌盖子实体全部(菌盖的表皮层和木栓层)、赤芝发酵菌丝体和紫芝。栽培地点为本校药圃,样品经徐鸿华教授鉴定为赤芝 *G. lucidum* 的不同部位及赤芝发酵菌丝体和紫芝 *G. japonicum* (Fr.) Lloyd 的菌盖子实体。以上样品经 80℃ 烘干后备用,凭证标本存于中药资源研究室。对照品: 灵芝酸 B, 从日本菌种中筛选的优良菌种^[6],以椴木培养的灵芝中提取而得,经四大光谱鉴定核实(由河南中医学院刘延泽教授鉴定),纯度经 HPLC 检查大于 98%。

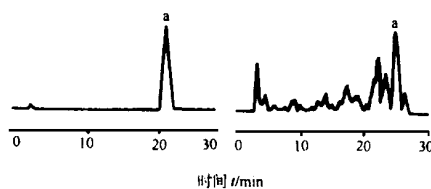
2.2 色谱条件: 检测波长 254 nm; 灵敏度 0.05 AUFS; 流速 0.7 mL/min; 柱温: 40℃; 流动相: 0.5% 高氯酸-甲醇(50: 50)。

2.3 供试液的制备: 均匀取以上样品粉末(40目) 0.5 g,精密称定,置索氏提取器中,以 80 mL 氯仿提取 4 h,取出提取液,蒸干溶剂,残留物以甲醇溶解,定容至 2 mL 量瓶中,摇匀,以 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,作为供试液。

2.4 标准曲线的制备: 精密称取对照品灵芝酸 B 适量,置 10 mL 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含灵芝酸 B 0.16 mg),以 0.45 μ m 微孔滤膜过滤。精密吸取对照溶液 1, 2, 3, 5, 7 μ L,按上述色谱条件测定。以对照品 X(μ g)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程 $A = 64460 - 1694900X$, $r = 0.9999$,表明灵芝酸 B 在 0.16~1.12 μ g 范围内呈线性关系。

2.5 精密度试验: 重复量取供试液 8 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算平均含量为 0.29 mg/g, $RSD = 0.93\%$ ($n = 5$)。

2.6 样品测定: 按以上色谱条件测定样品,进样量为 8 μ L,用外标法根据峰面积计算样品中灵芝酸 B 的含量。图 1 为对照品及样品的色谱图。



a-灵芝酸 B(t_R 24.41 min)

图 1 灵芝酸 B 对照品及样品色谱图

2.7 加样回收率试验: 采用加样回收法,取已知含量的样品约 0.25 g,精密称定,精密加入含有 0.050 mg 灵芝酸 B 对照溶液,自然挥干后,按供试品溶液方法制备并测定,按公式 $R\% = (A - B) / C \times 100\%$ (A : 加入对照品后总量, B : 样品中所含被测成分量, C : 加入对照品量),计算平均回收率为 102.6%, RSD 为 2.41% ($n = 3$)。

测定了 6 个样品中灵芝酸 B 的含量,见表 1。

3 结果与讨论

表 1 灵芝不同部位中灵芝酸 B 的含量 (n= 3)

样品	灵芝酸 B (mg /g)	RSD (%)
菌盖表皮层	0. 56	2. 01
木栓层	0. 19	1. 78
菌柄	0. 29	1. 22
菌盖子实体全部	0. 53	1. 82
孢子粉	0. 087	1. 27
赤芝发酵菌丝体	未测出	
紫芝菌盖	极微量	

3. 1 由于野生灵芝来源有限,现进行人工培养及发酵培养。我们在进行椴木培养灵芝的同时,对其有效成分进行了研究,提取分离和鉴定了灵芝中具有苦味的成分之一的灵芝酸 B,本研究以其为指标,测定了灵芝中灵芝酸 B 主要分布在灵芝子实体的表皮,其含量顺序如下:菌盖表皮层>菌盖子实体>菌柄>木栓层>孢子粉。同时,我们还检测了赤芝发酵菌丝体和紫芝,赤芝发酵菌丝体中未测出灵芝酸 B,紫芝中含有极其微量的灵芝酸 B,因此该成分同时可做区别赤芝及其发酵菌丝体的指标之一。

3. 2 在进行灵芝(赤芝)的保管和贮藏过程中,我们发现灵芝由于含有丰富的营养成分,较易生虫,并且虫蛀的部分多发生在木栓层部位,而灵芝子实体的表皮一般不易发生虫蛀,是否由于表皮部位含有较多苦味成分,尚待进一步研究。

参考文献:

[1] 吴兴亮. 灵芝及其他真菌彩色图志 [M]. 贵州: 贵州科技出版社, 1997.
[2] 严永清. 中药辞海 (第二卷) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997.
[3] Kobota T, Asaka Y, Miura I, et al. Structures of ganoderic acids A and B, two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst [J]. Helvetica Chimica Acta, 1982, 65(2): 611-619.
[4] Kiyotata K, Tooru I, Michiko A, et al. Antinociceptive components of *Ganoderma lucidum* [J]. Planta Maccica, 1997, 63 224-27.
[5] Kiroshi K, Wakako T, Kiyoe S, et al. The Biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst, histamine release-inhibitory triterpenes [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33 1367-1374.
[6] 徐鸿华,丁平,贺红等. 灵芝优良菌株的引进与开发 [J]. 中药材, 1998, 21(8): 383-385.

薄层色谱 分光光度法测定黄芪粉针剂中黄芪甲苷的含量

杨春欣,孙丽霞*,许根英
(复旦大学医学院附属中山医院,上海 200032)

摘 要: 目的 建立黄芪粉针剂的质量控制方法。方法 采用薄层色谱-分光光度法对黄芪粉针剂中的主要成分黄芪甲苷进行含量测定,展开剂为氯仿-甲醇-水 (65: 30: 10),测定波长为 418 nm 结果 回归方程 $A= 1. 538 C+ 0. 189, r= 0. 999 8$, 在 $80\sim 240\mu g$ 点样量范围内,吸光度与点样量呈良好的线性关系,平均回收率为 98. 68%, $RSD= 2. 52\%$ ($n= 5$)。结论 本方法使用简单仪器测定,结果可靠,专属性强,可作为黄芪粉针剂的质量控制标准。
关键词: 黄芪粉针剂;薄层色谱-分光光度法;黄芪甲苷
中图分类号: R927. 2 文献标识码: B 文章编号: 0253- 2670(2001)04- 0312- 03

Determination of content of astragaloside A in *Astragalus membranaceus* powder for injection by TLC-spectrophotometry

YANG Chun-xin, SUN Li-xia, XU Gen-ying

(Affiliated Zhongshan Hospital, Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract **Object** To develop a method for the quality control of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. powder for injection (AMPI). **Methods** TLC-spectrophotometry was used to determine the content of astragaloside A in AMPI. The mobile phase was chloroform-methanol-water (65: 30: 10) and detected at the wave length of 418 nm. **Results** The regression equation within the spotted range of $80\sim 240\mu g$ was $A= 1. 538 C+ 0. 189$, with good linearity, $r= 0. 999 8$. The average recovery rate was 98. 68% and $RSD= 2. 52\%$ ($n= 5$). **Conclusion** The method used simple and easily available instruments and the results obtained were reliable and specific, suitable for the quality control of AMPI.

* 收稿日期: 2000-06-12
作者简介: 杨春欣 (1951-),男,上海市人,副主任药师。主要从事中药和天然药物有效成分的提取分离,中药新剂型及其质量分析的研究。1991年公派到日本津村生物化学研究所研修,现为国家自然科学基金项目 (3987916)负责人,在国内外期刊和学术会议上发表论文 30余篇。Tel (021) 64041990转 2135 E-mail: cxyang@ citiz. net
* 复旦大学医学院 94级药学专业本科实习生