

取置信系数 $\alpha = 0.05$, 得临界值 $F_{1-0.05}(2, 2) = 19.0$,

因为 $F > F_{1-0.05}(2, 2)$, 所以 $\sigma_{\text{总黄酮}}^2$ 与 $\sigma_{\text{葛根素}}^2$ 之间有显著性差异。

综上所述, 葛根注射液分别以总黄酮和葛根素为评价指标时, 其室温稳定性预测结果与所得回归直线均存在较大差异。

3 讨论

3.1 关于采用不同指标预测稳定性: 中药注射液因所含成分复杂, 选择合理的稳定性评价指标对准确预测其稳定性至关重要。本文中葛根注射液分别以总黄酮和葛根素为指标的室温有效期相差近 2 倍。结果提示, 稳定性评价指标选择的不同对中药注射液稳定性预测结果有很大程度上的影响。笔者认为, 当不同的评价指标应用于中药注射液的稳定性预测时, 其有效期宜以较短的为准。因此, 在选择中药注射液稳定性评价指标时, 提供充分的选择依据是必要的。

3.2 关于中药有效部位的稳定性指示法: 目前, 中药有效部位的稳定性指标多采用紫外-可见分光光度法。实际上, 由于该法本身不具分离-分析功能, 专属性较差, 往往不能排除化学结构与反应物相似的

降解产物对反应物测定的干扰, 采用此法能否准确指示有效部位的稳定性变化值得商榷。笔者认为, 采用液相色谱法测定特定波长处的若干特征色谱峰总面积的变化, 以此指示有效部位的稳定性变化, 可能是较好的解决办法。

3.3 关于总黄酮与葛根素稳定性的差异: 葛根所含成分复杂, 有各类化合物 50 余个, 有效成分为葛根素、4-甲氧基葛根素、大豆苷-4, 7-二葡萄糖苷、大豆苷和大豆苷元等异黄酮类化合物, 以葛根素含量最高。葛根中除葛根素外的黄酮类化合物的稳定性研究未见报道, 葛根注射液中总黄酮较葛根素不稳定的原因是否由于其它异黄酮类化合物的不稳定引起, 尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 范姝姿, 赵仁泰, 吕方军, 等. 丹参注射液贮存期的预测[J]. 中成药, 1988, (12): 10~11.
- [2] 王晓青, 傅静. 葛根的药理作用研究进展[J]. 北京中医药大学学报, 1994, 17(3): 39~41.
- [3] 郭建平, 孙其荣, 周全. 葛根药理作用研究进展[J]. 中草药, 1995, 26(3): 163~165.
- [4] 郭建平, 孙其荣, 周全, 等. 葛根总黄酮不同提取工艺探讨[J]. 中草药, 1995, 26(10): 522-523.
- [5] 章育中, 杨凡. 高效液相色谱法测定葛根及其片剂中异黄酮的含量[J]. 药物分析杂志, 1984, 4(2): 67-70.

壳聚糖澄清剂的脱乙酰度及残留量研究

张彤, 徐莲英, 蔡贞贞*

(上海中医药大学 中药学院, 上海 200032)

摘要: 目的 对壳聚糖澄清剂的脱乙酰度及精制后的中药水提液中壳聚糖的残留量进行了探讨。方法 用线性滴定测定壳聚糖(游离胺基)的含量。结果 壳聚糖澄清剂的脱乙酰度约 80%, 在澄清液中壳聚糖残留量小于 0.010%。结论 壳聚糖作为精制中药水提液的澄清剂是可行的。

关键词: 壳聚糖; 絮凝澄清剂; 脱乙酰度; 残留量; 线性滴定法

中图分类号: R 927.11

文献标识码: A

文献编号: 0253-2670(2001)07-0597-04

Studies on degree of deacetylation of chitosan and its residual amount left over in clarified products when used as a clarificant

ZHANG Tong, XU Lian-ying, CAI Zhen-zhen

(College of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

Abstract: **Object** To study the degree of deacetylation of chitosan and its residual amount left over in the clarified products when chitosan was used as a clarificant. **Methods** The free amino group in the deacetylated chitosan was determined by linear titration. **Results** The degree of deacetylation of chitosan was found to be about 80%. The residual amounts left over in the clarified products were lower than 10^{-4} . **Conclusion** The results suggested that it is feasible to use chitosan as a clarificant for refining water ex-

* 收稿日期: 2000-10-18

基金项目: 上海市教委青年基金资助项目(No. 98QN67)

作者简介: 张彤(1972-)男, 浙江杭州人, 讲师, 硕士, 多年来从事中药制药研究。Tel: 021-54232074

tract of TCM.

Key words: chitosan; clarificant; degree of deacetylation of chitosan; residual amount left over in the clarified product; linear titrimetric method

前处理过程是保留药材中有效成分并去除杂质的过程。絮凝澄清法是在中药提取液中加入一种澄清剂,以吸附架桥和电中和方式除去溶液中的粗粒子,以达分离纯化的目的的一种方法。壳聚糖絮凝澄清剂在中药精制工艺中的应用已有报道^[1,2]。

作为澄清剂,壳聚糖在精制中药水提液时,或多或少会有一些残留。虽壳聚糖毒性低、具有良好的生物相容性,但其本身有一定的药理功效,使用过程中的残留量问题还需作进一步探讨说明。脱乙酰度关系到壳聚糖的溶解性、粘度、絮凝能力等性能^[3]。因此,作为中药水提液澄清剂,脱乙酰度将直接影响澄清效果,是质量控制中的关键指标。壳聚糖(游离胺基)的量及脱乙酰度可通过相同的方法测定,经不同的计算而得。本文采用线性滴定法^[4]。

1 原理

壳聚糖中脱乙酰后的胺基呈游离态,属伯胺,具有阳离子性质,且胺基特别稳定,即使 50% 氢氧化钠溶液中加热至 150 也不会分解,而大多数胺化合物则释放出氨或降解。所以可将壳聚糖样品溶于稀盐酸,再用氢氧化钠回滴过量的盐酸,以此测定脱乙酰度。滴定终点可用酸碱指示剂、电位滴定、示波器指示等方法确定。但这些方法在接近终点时,局部碱浓度过高,会有壳聚糖沉淀析出,要等沉淀再溶解,需较常时间,且析出的壳聚糖容易覆盖在电极膜上,影响 pH 的测定。线性滴定法是对电位滴定法的改进,将滴定曲线改为直线,滴定时不必逐点滴定,可以在离等当点较远处用外推法确定滴定终点。

$$f(v) = (V_0 + V) ([H]^+ - [OH]^-) / N_B$$

式中 $f(v) = V_e - V$; V 为滴定液的体积 (mL);

V_0 为被滴定液体积 (mL); V_e 为到达滴定终点时所需滴定液的体积 (mL); N_B 为滴定液的浓度。以 $f(v)$ 为纵坐标, V 为横坐标作图,直线外推与横坐标相交于一点即为滴定终点时所需滴定液体积 V_e 。

2 主要实验材料和仪器

药材:所需药材均购于上海徐汇饮片厂。

仪器: pH S-2 型酸度计,上海三信仪表厂;磁力搅拌,上海医疗器械五厂。

3 实验方法和结果

3.1 壳聚糖的脱乙酰度测定:取约 0.1 g 壳聚糖,于 50 mL 烧杯中,加水 10.00 mL 及 20.00 mL 0.05 mol/L 的盐酸,在室温条件下溶解。磁力搅拌下用 0.1 mol/L 氢氧化钠滴定,先加入 2~4 mL 滴定液后开始滴定,然后每加 1 mL,测定一次 pH,以外推法求出 V_e 。按下式计算脱乙酰度 $\omega\%$ 。结果见表 1。

$$\omega\% = (N_A V_A - N_B V_e) \times 161 \times 100\% / W(1 - a)$$

式中 N_A 、 V_A 分别为盐酸的浓度和体积,本实验盐酸经标定为 0.056 30 mol/L; N_B 为氢氧化钠的浓度,本实验中经标定为 0.099 90 mol/L; 161 为壳聚糖中氨基葡聚糖的链节相对分子量; W 为样品重量; a 为样品含水量,本实验经测定为 6.01%。

3.2 溶液中壳聚糖(游离胺基)回收率:取 1.5 mL 1% 的壳聚糖醋酸溶液,加 1 mol/L 氢氧化钠 5 mL,水 10 mL。在碱性条件下,壳聚糖会析出。放置几小时后,过滤,水洗至中性,再用异丙醇洗 2~3 次,得膜状壳聚糖。将所得壳聚糖溶于 20 mL 0.5 mol/L 的盐酸中,按 3.1 的方法用氢氧化钠滴定,以外推法求出 V_e ,按下式计算壳聚糖(游离胺基)含量。结果见表 2。

表 1 壳聚糖脱乙酰度测定结果

样品号	样品重(g)	V(mL)	pH	f(V)	V_e (mL)	脱乙酰度(%)	平均(%)	RSD(%)
1 号	0.1130	2.18	1.98	3.39	5.74	83.8	81.4	2.64
		3.20	2.16	2.30				
		4.28	2.43	1.28				
		5.40	2.96	0.39				
2 号	0.0990	2.32	2.00	3.25	6.56	80.7	81.4	2.64
		3.32	2.14	2.42				
		4.42	2.33	1.61				
		5.58	2.68	0.77				
3 号	0.1045	2.20	1.98	3.38	6.41	79.6	81.4	2.64
		2.32	2.14	2.42				
		4.38	2.32	1.64				
		5.36	2.63	0.84				

表 2 溶液中回收率试验结果

样品	V(mL)	pH	f(V)	Ve(mL)	壳聚糖量 (游离胺基)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)		
1 号	4.36	2.02	3.30	10.65	9.99	87.1	91.8	5.36		
	5.25	2.08	2.92							
	6.30	2.20	2.31							
	7.24	2.32	1.78							
2 号	4.52	2.03	3.25	10.62	10.47	91.3				
	5.60	2.11	2.75							
	6.62	2.22	2.22							
	7.75	2.40	1.50							
3 号	6.31	1.98	3.79	10.58	11.12	96.9				
	7.51	2.15	2.67							
	8.59	2.33	1.78							
	9.55	2.64	0.91							

壳聚糖(游离胺基)含量 = $(N_A V_A - N_B V_E) \times 161$

式中 N_A 、 V_A 分别为盐酸的浓度和体积, 本实验盐酸经标定为 0.056 30 mol/L; N_B 为氢氧化钠的浓度, 本实验中经标定为 0.099 90 mol/L; 161 为壳聚糖中氨基葡聚糖的链节相对分子量。

1.50 mL 1% 的壳聚糖醋酸溶液含壳聚糖(游离胺基)为 11.47 mg。

3.3 残留量探讨

3.3.1 实验设计: 壳聚糖在碱性条件会析出, 实验表明溶液中壳聚糖(游离胺基)回收率可达 90% 左右。因此, 可以进一步讨论澄清工艺中壳聚糖的残留量。本文选用所含成分受酸碱影响较小的淫羊藿、制首乌、知母为研究对象。取试管进行如下 3 组试验。

3.3.2 实验方法及结果

A 组试验: ①取淫羊藿澄清后的上清液 1 mL, 滴加 1 mol/L 的氢氧化钠, 碱性条件下放置无沉淀析出; 再滴加 1% 的壳聚糖醛酸溶液, 立即有沉淀析出。

②取知母澄清后的上清液 1 mL, 实验方法同①。有沉淀析出。

③取制首乌澄清后的上清液 1 mL, 实验方法同①。有沉淀析出。

B 组试验: ①取 2 mL 1% 的壳聚糖醋酸溶液, 逐滴加入 1 mol/L 氢氧化钠, 出现絮状沉淀, 轻摇即散, 随着氢氧化钠加入量的增多, 沉淀不再消失。

②取 2 mL 0.1% 的壳聚糖醋酸溶液, 实方法及结果同①。

③取 2 mL 0.01% 的壳聚糖醋酸溶液, 同①方法实验, 沉淀不再消失, 但沉淀量较少。

④取 2 mL 0.005% 的壳聚糖醋酸溶液, 逐滴加入 1 mol/L 的氢氧化钠至碱性, 放置后出现少量

絮状沉淀。

⑤取 2 mL 0.001% 的壳聚糖醋酸溶液, 逐滴加入 1 mol/L 的氢氧化钠至碱性, 放置后出现微量絮状沉淀, 很不明显。

C 组度试验: ①淫羊藿加入壳聚糖澄清后, 离心弃去上清液。取沉淀, 加 5 mL 0.5 mol/L 的盐酸, 超声提取 10 min, 取上清液, 逐滴加入 1 mol/L 的氢氧化钠至碱性, 有沉淀析出。

②知母加入壳聚糖澄清后, 同①实验, 结果有沉淀析出。

③制首乌加入壳聚糖澄清后, 同①实验, 结果有沉淀析出。

A 组试验说明对所选中药, 壳聚糖澄清后的上清液在碱性条件下无壳聚糖析出; B 组试验说明当壳聚糖浓度大于 0.01% 时, 碱性下能较明显观察到壳聚糖析出; C 组试验说明壳聚糖在精制中药水提液时, 大多数壳聚糖随杂质而沉淀析出。

4 讨论

4.1 壳聚糖(游离胺基)含量及脱乙酰度的测定可通过相同的方法测定, 经不同的计算而得。本文采用线性滴定法, 操作简单, 可避免滴定终点时析出沉淀的干扰。

4.2 脱乙酰度直接关系到壳聚糖的溶解性、粘度、絮凝能力等性能。作为中药水提液澄清剂, 脱乙酰度将直接影响澄清效果, 是质量控制的关键。本文采用的壳聚糖脱乙酰度约 80%。

4.3 澄清工艺上清液碱性条件下无絮状沉淀析出, 而沉淀的盐酸提取液碱化后有絮状沉淀。说明澄清工艺中大部分壳聚糖与杂质等一同形成絮状沉淀而除去。

4.4 观察不同浓度的壳聚糖醋酸溶液碱化后沉淀的析出情况, 可初步说明澄清工艺上清液中壳聚糖

残留量约为 0.01%,说明壳聚糖作为精制中药水提液的澄清剂是可行的。

参考文献:

[1] 倪健,任天池. 甲壳素用于中药提取液的澄清[J]. 中草药, 1995, 26(12): 637-638.

[2] 张彤,徐莲英,陶建生,等. 壳聚糖用于单味中药浸提液澄清效果的研究[J]. 中草药, 1999, 30(10): 744-747.
[3] 汪志君. 碱量法测定壳聚糖中的胺基[J]. 化学世界, 1986, (1): 22-23.
[4] 柯火仲,陈庆绸. 线性电位滴定壳聚糖[J]. 化学通报, 1990, (10): 44-47.

4 种姜黄属药材挥发油中莪术醇含量比较

谢莹, 杭太俊, 张正行, 安登魁*

(中国药科大学药物分析教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 目的 建立准确测定姜黄属 4 种中药材挥发油中莪术醇含量。方法 以高效毛细管柱程序升温气相色谱法测定莪术醇的含量。结果 本法能准确地测定莪术醇的含量,回收率为 101.4%,*RSD* 为 0.4%,还测定了 4 种姜黄属药材(温郁金,姜黄,桂莪术,蓬莪术)中莪术醇的含量,发现 4 种药材中莪术醇的含量差异显著。结论 为姜黄属药材质量的分析控制提供可行的含量测定方法。

关键词: 姜黄属; 莪术醇; 温郁金; 姜黄; 莪术; 桂莪术

中图分类号: R 927.2 文献标识码: B 文献编号: 0253-2670(2001)07-0600-03

Comparison of curcumol contents in essential oil from four species of rhizoma *Curcumae* L.

XIE Ying, HANG Tai-jun, ZHANG Zheng-xing, AN Deng-kui

(Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210009, China)

Abstract: **Object** To develop a new method for the determination of curcumol in essential oil from rhizoma *Curcumae* L.. **Methods** The contents of curcumol were determined by high performance capillary gas chromatography with sequential increase of temperature on a HEWLETT PACKARD 5890A gas chromatograph. **Results** The method can be used to determine curcumol with accuracy at a recovery of 101.4% and *RSD* of 0.40%. **Conclusion** The present study provided a satisfactory method for the determination of curcumol, and it was found that its contents in four different species (*C. wenyujin*, *C. longa*, *C. aeruginosa*, and *C. kwangsiensis*) were markedly different.

Key words: *Curcumae* L.; curcumol; *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling; *Curcuma longa* L.; *Curcuma aeruginosa* Roxb.; *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang

姜科(Zingiberaceae)姜黄属(*Curcuma* L.)植物是较为常用的中药。我国有植物 8 种,其中有 5 种:温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling、姜黄 *C. longa* L.、莪术 *C. aeruginosa* Roxb.、桂莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 和川郁金 *C. sp.* 的根茎作为中药材莪术、郁金或姜黄应用于临床,具有破瘀、行气、消积和止痛的功效;还具有抗癌、抗早孕、抗凝血、抗氧化和保肝等活性^[1]。均富含挥发油,且成分相当复杂,除了莪术醇(curcumol)外还有莪术酮、莪术烯、吉马酮、乌药奥等 20 几种成分^[3]。经研究发现,挥发油中抗癌有效成分为莪术醇与莪二酮^[2]。文献报道莪术醇的含量

用气相色谱归一法^[3,4],或薄层扫描法^[5]测定。本实验采用高效毛细管气相色谱法定量测定莪术醇含量并比较了蓬莪术、姜黄、温郁金、桂莪术(《中国药典》2000 版规定蓬莪术、桂莪术都为莪术)这 4 种药材挥发油中莪术醇含量的差异。该方法简便准确,为药材质量标准的建立提供可行方法。

1 药材

莪术醇对照品购于中国药品生物制品检定所;桂莪术、姜黄购于江苏省药材公司;温郁金、蓬莪术购于江苏省中医院中药房;有机溶媒皆为 AR 级。药材经本校生药学教研室程志宏博士鉴定。

2 仪器与色谱条件

* 收稿日期: 2000-10-25