

中,以峰面积(Y)为纵坐标,龙胆苦苷浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,得到回归方程为: $Y = 25\,386.6X - 2\,648.6$, $r = 0.999\,9$,结果表明:龙胆苦苷在 $2.42\sim 14.52\,\mu\text{g/mL}$ 范围内,进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 稳定性及精密度试验:按上述色谱条件,取同一样品,分别在 0, 0.5, 2.0, 4.0, 5.0 h 连续进样 5 次,进行测定,记录样品色谱峰峰面积积分值,结果 RSD 为 0.6%。精密吸取一定浓度的对照品溶液,连续进样 5 次,记录对照品对应色谱峰峰面积, RSD 为 0.6%。结果显示在此实验条件下样品稳定性及仪器精密度良好。

2.5 加样回收率测定:精密称取已知含量的样品约 1 g,精密加入龙苦苷对照品溶液 1 mL,按样品含量测定操作,结果平均回收率为 100.8%, RSD 为 3.5% ($n = 3$)。

2.6 重复性试验:取同一批号样品 5 份,按样品测定项下操作, RSD 为 1.6%。

2.7 样品含量测定:取鼻咽清毒颗粒约 20 g,研细、混匀,取其中约 2 g,精密称定,准确加入 1 mL 甲醇使粉末湿润,然后加 100 mL 乙酸乙酯,超声 1 h,并用乙酸乙酯补足失去的量,过滤,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残留物用流动相溶解并定容至 25

mL,摇匀,用 $0.45\,\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,即得。取 $20\,\mu\text{L}$ 注入高效液相色谱仪中,用外标一点法计算,结果见表 1。

表 1 鼻咽清毒颗粒中龙胆苦苷的含量(mg/g)

批号	J0601A	J0703A	I0501A	I0572A	I0574A
含量	0.534	0.716	0.786	0.843	0.668
续表 1					
批号	I0504A	I0523A	I0571A	I0576A	I0575A
含量	0.623	0.825	0.787	0.787	0.685

3 讨论

3.1 检测波长的选择:取适量浓度的龙胆苦苷对照品溶液,进行紫外扫描,得最大吸收波长为 270 nm。

3.2 流动相的选择:本实验通过采用甲醇-水的不同比例以及不同量的冰醋酸为流动相进行试验,确定流动相为甲醇-水-乙酸(28 : 72 : 0.47),样品峰能得到了较好的分离。

3.3 温度的选择:由于本品的药物组成多,成分复杂,不同成分受温度的影响不同,通过试验确定该实验的温度为 29 ℃,以确保色谱的一致。

3.4 样品的处理:龙胆苦苷是环烯醚萜类物质,本实验通过采用甲醇、正丁醇、乙酸乙酯,以不同的时间进行超声处理或回流,确定本实验的方法简便、分离度好、准确度高、重现性好,回收率高,可作为鼻咽清毒颗粒的质量控制方法。

独尾草多糖的超声提取及含量测定

刘金荣,江发寿,但建明,王航宇,赵文斌*
(石河子大学药学院,新疆 石河子 832002)

独尾草系百合科独尾草属植物,我国有 4 种,新疆产 3 种^[1],其中粗柄独尾草 *Eremurus inderiensis* (M. Bieb.) Regel 和异翅独尾草 *E. anisopterus* (Ker. et kir) Regel 是生长在干旱、沙漠地区的特有种,是新疆沙漠地区抗旱抗沙的早春植物。独尾草以根入药,具有祛风除湿、补肾强身之功效^[2]。在新疆少数民族地区称其为西力力(维语译音),民间有用其根焙干磨粉冲服,治疗消化道顽疾。近年来,我们对粗柄独尾草进行了研究,发现它除含葱醌外,还含有大量的多糖^[3]。本实验采用超声提取法和苯酚-浓硫酸比色法对独尾草多糖进行了研究。

1 仪器、材料与试剂

岛津 UV-2401PC 紫外可见分光光度计, DL-360 超声波仪(35kHz, 浙江象山县石浦海天电子仪器厂)。

独尾草采自下野地垦区,经新疆药研所民族药研究室张彦富研究员鉴定为粗柄独尾草 *Eremurus indriensis* (M. Bieb.) Regel。葡萄糖对照品(分析纯)。其它试剂均为分析纯。

2 标准曲线的制备

精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品,配成浓度为 $1.002\,\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,精密吸取 0.10,

* 收稿日期: 2001-09-10
作者简介: 刘金荣(1954-),女,河南淮阳人,副教授,主要从事天然药物的研究和分析。Tel: 0993-2057159

0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 mL, 分别加入6 mL 苯酚溶液和30 mL 浓硫酸, 30℃恒温30 min后, 冷却至室温, 定容到50 mL, 在490 nm处测定吸光度(A), 以不加样为空白。以浓度(C)对A回归, 得方程 $A = 3.525 \times 10^{-2} C + 0.01336$, $r = 0.9995$ 。样品在4.00~12.00 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内线性良好。

3 独尾草的提取和精制

取独尾草粉末100 g, 经石油醚(60℃~90℃)500 mL回流脱脂2次, 每次1 h。再用80%乙醇回流提取2次, 每次2 h, 除去单糖和低聚糖。将药渣加500 mL水90℃水浴提取2次, 合并提取液。旋转薄膜蒸发仪上减压浓缩至150 mL, 加适量活性炭脱色2次, 过滤, 滤液加5倍量95%乙醇, 放置过夜, 抽滤后的沉淀以100 mL水溶解重复醇沉一次。沉淀以95%乙醇、无水乙醇、丙酮、乙醚依次洗涤, 60℃干燥, 即得独尾草多糖。

4 换算因素的测定

精密称取独尾草多糖20.00 mg, 置100 mL容量瓶中, 加少量水溶解并稀释至刻度, 摇匀作贮备液。精密吸取贮备液2.00 mL, 照标准曲线制备项下的方法测定吸光度, 按下式计算换算因素, 测得 $f = 3.8294$ 。

$$f = W / CD$$

W为多糖重量(μg); C为多糖中葡萄糖的浓度($\mu\text{g/mL}$); D为多糖的稀释因素。

5 回收率测定

精密称取样品粉末0.15 g, 加入一定量的独尾草多糖, 按样品液制备和含量测定方法操作, 计算回收率, 结果平均回收率为100.4%。 $RSD = 1.56\%$ ($n = 3$)。

6 独尾草多糖含量测定

6.1 常规方法: 取独尾草粉末0.3005 g, 置索氏提取器中, 加80%乙醇100 mL, 回流提取2 h, 残渣用80%乙醇洗至无色, 继续用水100 mL回流2 h, 反复洗, 然后置250 mL容量瓶中定容备用。精密吸取各供试液3.0 mL, 照标准曲线制备项下的方法测定吸光度。按下式计算多糖含量, 测得独尾草多糖含量

为4.33%。

$$\text{多糖含量} \% = CDf / W \times 100$$

C为供试液葡萄糖浓度($\mu\text{g/mL}$), D为供试品溶液的稀释因素, f为换算因素, W为供试品重量(μg)。

6.2 超声方法: 称取经烘干处理的独尾草0.5169 g置250 mL锥形瓶中, 加80%的乙醇120 mL于超声波仪上提取2次, 每次1 h。过滤, 滤渣加水70 mL于超声波仪上提取40 min后过滤, 合并两次提取液, 然后定容于250 mL容量瓶中, 从中精密吸取10.0 mL, 照标准曲线制备项下的方法测定吸光度。按6.1法计算多糖含量为6.36%。

7 讨论

用80%乙醇提取目的是除去原料中的单糖、低聚糖、苷类及蒽醌苷类成分。超声提取时间较长, 可以保证除尽干扰物质。因独尾草中含大量的蒽醌类成分, 提取液颜色较深, 用活性炭多次脱色处理。用紫外可见分光光度法测定多糖含量, 具有简便快速、灵敏度高、重现性好的优点。

超声法提取多糖有较大的优势, 提取时间短, 勿须加热, 提取量多。另外超声波破碎过程是一个物理过程, 浸提过程中无化学反应, 被浸提的生物活性物质在短时间内保持不变, 生物活性不减, 同时提高了破碎速度, 缩短了破碎时间, 可极大地提高提取效率^[4]。

植物多糖广泛存在于自然界, 是许多天然药物中的有效成分, 具有抗衰老、抗溃疡与抗炎症、抗肿瘤、降血糖、降血脂等多种生物活性^[5]。独尾草多糖的结构和生物活性以及作用机制还有待于进一步的研究和探讨。

参考文献:

- [1] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志(第六卷)[M]. 新疆: 新疆科技卫生出版社, 1996.
- [2] 云南药材公司. 云南中药资源名录[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [3] 刘金荣, 江发寿, 唐辉. 新疆沙生植物独尾草的化学成分研究[J]. 石河子大学学报, 2001, 5(增刊): 38.
- [4] 赵兵, 王玉春, 欧阳藩, 等. 超声波在植物提取中的应用[J]. 中草药, 1999, 30(9): 附1-3.
- [5] 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 441.

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅