

生产上,可以确定解吸洗脱液,即 50%乙醇用量为 200 mL,折合每克干树脂约为 40 mL。

3 讨论

三裂叶蟛蜞菊所含化学成分复杂,有内酯、黄酮等。倍半萜内酯就有十多种。大都是 γ 亚甲基内酯同系物,其成环的数量及侧链的长短不同,其分离、测定也比较困难,尤其是在目前对照品难以获得情况下,分离、纯化工作的难度就更大。本实验通过 GC 行为的峰强度和保留时间定性,以阿魏酸为内标测定药材中样品的 WTA 和 WTB 含量,方法精确、可靠,唯操作较为烦琐。

大孔树脂吸附法适于从三裂叶蟛蜞菊原料中分离、富集 WTA 和 WTB。而且使用 D₁₀₁型大孔树脂具有吸附快、解吸率高、吸附容量大、洗脱率高等特点,在分离、富集 WTA 和 WTB 方面有工业应用推广价值。但因其原料中含量低,所得产品的纯度仅稍高于 4%,更高纯度的产品还需其他的分离、纯化方法。这方面的工作有待进一步研究。

国内外许多文献报道了蟛蜞菊 *W. chinensis* 的活性成分为蟛蜞菊内酯(wedelolactone),大、小鼠体内外实验证实其降低四氯化碳、半乳糖、毒伞素(phalloidin)诱导的肝损伤作用,具有抗肝毒素、抗炎等生理活性,已通过化学方法合成了该天然产物,并证实其含量随季节而变化^[6-10],作者在 GC-MS 分析中检测到该成分存在于三裂叶蟛蜞菊中,但根据活性跟踪测定,该成分很少或没有抗肿瘤活性。

References

- [1] Farag S F, Emary N A, Niwa M. Eudesmanolides from *Wedelia prostrata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44 (4): 661-664.
- [2] Yip N L. Antitumor activities of extracts and fractions from *Wedelia trilobata* [A]. *Dissertation of Master Degree of Chinese University of Hong Kong* (香港中文大学硕士学位论文) [D]. Hong Kong: Chinese University of Hong Kong, 2002.
- [3] Rodriguez E, Towers G H N, Mitchell J C. Biological activities of sesquiterpene lactones [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15 (11): 1573-1580.
- [4] Ferreira D T, Levorato A R, Faria T D J. Eudesmanolide lactones from *Wedelia paludosa* [J]. *Nat Prod Lett*, 1994, 4 (1): 1-7.
- [5] Phytochemical Lab., Medical Research Institute, Chinese Scientific and Medical University. Macroreticular resin used in the extracting and separating the bioactive components in traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1980, 11(3): 138-141.
- [6] Murali B, Amit A, Anand M S, *et al.* Estimation of wedelolactone and demethylwedelolactone in *Eclipta alba* Hassk. by improved chromatographic [J]. *J Nat Remedies*, 2002, 2 (1): 99-101.
- [7] Kamalam M, Jegadeesan M. Estimation of bioactive principle, wedelolactone in *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr [J]. *Indian Drugs*, 1999, 36(7): 484-486.
- [8] Melo P A, Nascimento M C, Mors W B, *et al.* Inhibition of the myotoxic and hemorrhagic activities of crotalid venoms by *Eclipta prostrata* (Asteraceae) extracts and constituents [J]. *Toxicon*, 1994, 32(5): 595-603.
- [9] Wong S M, Antus S, Gottsegen A, *et al.* Wedelolactone and coumestan derivatives as new antihepatotoxic and anti-phlogistic principles [J]. *Arzheimittelforsch*, 1988, 38(5): 661-665.
- [10] Wagner H, Fessler B. *In vitro* 5-lipoxygenase inhibition by *Elipta alba* extracts and the coumestan derivative wedelolactone [J]. *Planta Med*, 1986, (5): 374-377.

蒙成药高尤-13中多糖的研究

赵玉英,赵玉琴,朴贵金,孙占才*

(内蒙古民族大学化学学院,内蒙古 通辽 028043)

多糖几乎存在于所有生物体中,具有能量储存、防御功能、抗肿瘤作用、免疫促进活性等多方面的生物功能,所以近年来多糖成为天然药物研究的热点^[1,2]。高尤-13为丸剂(水丸),由槟榔、肉豆蔻、沉香、当归、木香、草乌(制)、筚拨、紫硃砂、葶苈子、丁香、广枣、干姜、胡椒等组成,调节“赫依”,安神止痛,用于心悸、失眠、精神失常、游走刺痛等症^[3]。本实验

在研究广枣多糖组分^[4]的基础上,研究了高尤-13水溶性多糖组成和含量。关于高尤-13化学组分的研究尚未见报道。

1 仪器及药品

HP5890气相色谱仪,721型分光光度计(上海)。高尤-13由内蒙古蒙药制药厂提供,批号为990102。木糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、岩藻糖、鼠李

* 收稿日期: 2002-10-25

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助课题 (ZD9924)

作者简介: 赵玉英(1960-),女,内蒙古赤峰林东人,教授,1982年毕业于内蒙古师范大学化学系,1984年在南开大学进行研究生课程学习,1993年在东北师范大学进行课题研究。研究方向为配位化学和蒙药化学。Tel (0475) 8313485

糖、阿拉伯糖为上海试剂二厂产品,核糖、阿洛糖、肌醇为进口试剂,其他试剂均为分析纯,双蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 多糖的提取及含量测定

2.1.1 水溶性多糖的提取和样品的制备: 称取粉碎的高尤-13 10.0 g,用三氯甲烷-丙酮抽提除去色素以及有机试剂溶解物,将药渣风干放入 500 mL 蒸馏瓶中,加双蒸馏水 300 mL 搅拌加热,温度控制在 70℃~80℃,提取 2 h,共提取 3 次,合并提取液,减压浓缩至 15 mL,加乙醇沉淀,静置 24 h,抽滤,分别用无水乙醇 10 mL 洗 3 次,再用丙酮 10 mL 洗 3 次,乙醚 10 mL 洗 1 次,干燥得白色高尤-13 粗多糖 1.35 g。经 sp-sephadex C-25 阳离子交换树脂提纯得 1.15 g 多糖。精密称取恒重高尤-13 多糖 0.012 1 g,置于 100 mL 容量瓶中,加入 0.5 mol/L H₂SO₄ 20 mL,加热水解 2 h,冷却至室温,稀释至刻度,待测水溶性多糖含量。

2.1.2 糖含量的测定: 精密称取葡萄糖对照品 100 mg,用纯水制成 0.1 mg/mL 的对照品溶液,分别稀释至 10.00, 20.00, 30.00, 40.00, 50.00 μg/mL 的 5 个不同浓度的对照品系列溶液,精密吸取 1.0 mL 置 10 mL 容量瓶中,加入 5% 苯酚 1.5 mL 混匀,加入浓硫酸 7.5 mL,加水至刻度,旋涡混合 5 min,再放置 20 min 后,在 497 nm 波长处测定 A 值,求得标准曲线的回归方程为 $C = 0.1862A - 0.002774$, $r = 0.9997$ 。在 5~75 μg 葡萄糖质量与吸光度线性关系良好。取待测糖样品溶液 0.2 mL 按标准曲线的绘制方法测定 A 值,由回归方程计算高尤-13 糖含量为 88.4%,其产率为 10.16%。

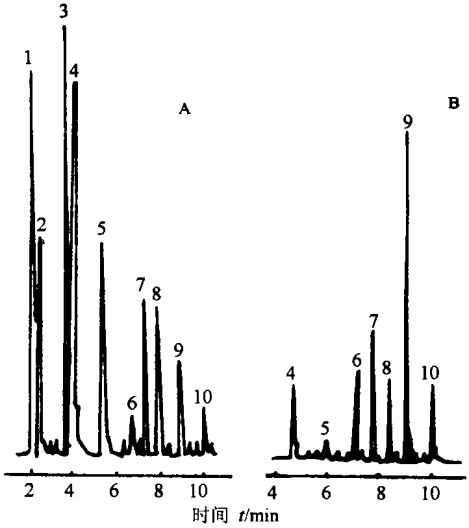
2.1.3 回收率试验: 精密称取样品 5 mg 置于 50 mL 容量瓶中,加入 1 mol/L H₂SO₄ 10 mL 加热水解 2 h,冷却至室温,加入一定量葡萄糖对照品溶液,稀释至刻度,按 2.1.2 项下方法进行含量测定,结果平均回收率为 100.9%, $RSD = 0.91\%$ ($n = 5$)。

2.2 水溶性多糖的组分分析

2.2.1 各种单糖的 GC 分析: 精密称取木糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖、核糖、鼠李糖、岩藻糖各 2 mg 配成 1 mg/mL 的混合糖液。另分别配制阿洛糖、肌醇的 1 mg/mL 溶液。量取混合糖液 0.2 mL 依次加入 28% 浓氨水 0.05 mL、肌醇 0.05 mL 和阿洛糖 0.05 mL 混合,量取 0.2 mL,依次加入少量乙醇、氨水、四氢硼钠混合,在 40℃ 水浴加热 1 h,再依次加入冰醋酸 10 滴、1-甲基咪唑 0.5 mL 和乙酸酐

5.0 mL,放置 10 min,冰浴 10 min,将溶液用 KOH 调至强碱性,再冰浴 30 min,待分层后取出油层,用氮气吹干,然后用乙酸乙酯溶解,直接进行气相色谱分析。

气相色谱条件: 色谱柱为 HPX70 毛细管柱,检测器和进样口温度均为 270℃,柱温为 180℃~230℃,9 min 的程序升温,采用峰面积内标法定量(用肌醇和阿洛糖作内标)。单糖的气相色谱图见图 1。



1-鼠李糖 2-岩藻糖 3-核糖 4-阿拉伯糖 5-木糖
6-阿洛糖 7-甘露糖 8-半乳糖 9-葡萄糖 10-肌醇
1-rhamnose 2-fucose 3-ribose 4-arabinose 5-xylose
6-allose 7-mannose 8-galactose 9-glucose 10-inositol

图 1 混合对照品 (A) 和水溶性多糖 (B) 的气相色谱图

Fig. 1 GC chromatograms of mixed reference substances (A) and water soluble polysaccharide (B)

2.2.2 水溶性多糖的组分分析: 精密称取多糖约 10.0 mg,加入 2 mol/L H₂SO₄ 10 mL 水解 2 h 取该溶液 0.2 mL,按上述色谱条件测定,气相色谱图见图 1。将水溶性多糖的单糖组成及其含量列入表 1。水溶性多糖中单糖阿拉伯糖、木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖的物质的量比为 1.87: 0.20: 6.10: 4.44: 22.22。

表 1 高尤-13 水溶性多糖的组成及含量 ($n = 5$)

Table 1 Components and contents of water soluble polysaccharide in Gaoyou-13 ($n = 5$)

组 成	含量 %
阿拉伯糖	3.83
木糖	0.41
甘露糖	15.06
半乳糖	10.95
葡萄糖	54.75
总糖	85.00

3 讨论

3.1 高尤-13水溶性多糖含量为 10.16%,其水溶性多糖由阿拉伯糖、木糖、甘露糖、半乳糖和葡萄糖等组成,葡萄糖含量较高,有一定的阿拉伯糖、甘露糖和半乳糖,少量木糖。

3.2 将单糖转化成多羟基醇时,用四氢硼钠还原,在实际操作中可使四氢硼钠微过量,再用冰乙酸分解过量的四氢硼钠,否则会干扰酰化过程

3.3 为了便于 GC分析,将多元醇酰化,制成易挥发、对热稳定的衍生物。这个过程是多元醇与乙酸酐的反应,该反应的好坏取决于反应条件,最重要的条件之一是催化剂的使用,本实验使用 1-甲基咪唑

3.4 实验用苯酚现用现配,标准曲线用苯酚的浓度

与测定样品时用苯酚的浓度必须一致,否则糖含量测不准确。

References

- [1] Dong Q, Fang J N. Applications of polysaccharides in medicine [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2001, 36(10): 649-652.
- [2] Wang R, Wu J B. Advances in studies on bioactivity of polysaccharides [J]. *World Notes- Antibiotics* (国外医药·抗生素分册), 2001, 22(3): 97-99.
- [3] Health Bureau of Inner Mongolia. *Standards of Mongolian Medicine in Inner Mongolia* (内蒙古蒙成药标准) [M]. Chifeng: Inner Mongolia Science and Technology Publishing House, 1984.
- [4] Zhao Y Y, Hai P. Determination for constituents of poly-saccharide and the content of saccharide from Mongolian medicine *Fructuos Choerospondiatis*. [J]. *Chin Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21(6): 440-442.

RP-HPLC法测定总藤黄酸中藤黄酸的含量

柳文媛,冯 锋*,尤启冬**,张正行*

(中国药科大学 药物分析教研室,江苏 南京 210009)

藤黄系藤黄科植物藤黄 *Garcinia hanburyi* Hook. f.所分泌出的干燥树脂,性寒,味酸、辛、涩,有毒,具破血散结、解毒、止血、杀虫之功效,用于治疗瘰疬、痈疽、脓肿等顽疾^[1]。藤黄的抗癌作用为我国药理和临床工作者最早发现。江西省曾将藤黄制剂用于肿瘤的临床治疗,证实对多种癌症有效,并证明其主要的有效成分为藤黄酸(gambogic acid)^[2,3]。国内曾组织区域性协作研究,发现并经多次实验证明藤黄具有抗癌作用^[4]。近年来,有关研究仍偶尔可见,但未进行系统化、规范化试验。总藤黄酸为本校首次制得,药理学研究表明,总藤黄酸对小鼠腹水型肝癌、艾氏腹水癌、肉瘤 180(S₁₈₀), S₃₇, Walk 256 人肝癌 Bel-7402, SMMC-7721 宫颈癌 U14, Hela 细胞株等有显著的抑杀作用。

藤黄酸类化合物的分析方法文献报道有薄层扫描法^[5], HPLC-UV 法^[6,7]。本实验首次采用甲醇-0.1% H₃PO₄(9:1)为流动相,且该流动相组成简单,色谱峰形好,可用于总藤黄酸及其制剂中藤黄酸的分析。

1 仪器与试剂

岛津 LC-6A液相色谱仪,岛津 LC-6A积分仪,Alltima C₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm),甲醇、磷酸

均为分析纯,藤黄酸对照品自制(98%)。

2 方法和结果

2.1 对照液制备:取藤黄酸对照品 10 mg,精密称定,置 25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,精密取该液 1.0 mL置 25 mL量瓶中,加流动相至刻度,即得。

2.2 供试液制备:取总藤黄酸 10 mg,精密称定,置 25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,精密取该液 1.0 mL置 25 mL量瓶中,加流动相至刻度,即得。

2.3 色谱条件:甲醇-0.1% H₃PO₄(9:1)为流动相,检测波长为 360 nm,温度为室温,理论塔板数按藤黄酸计算应不低于 4 000

2.4 方法学考察

2.4.1 标准曲线和线性范围:取藤黄酸对照品 10 mg,精密称定,置 10 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,精密吸取 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL,置 25 mL量瓶中,流动相稀释至刻度,吸取各对照品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积,以峰面积 Y为纵坐标,对照品溶液浓度 X为横坐标进行线性回归,得回归方程 Y= 30 153X- 647.91 (r= 0.999 8),线性范围为 4.0~ 24.3 μg/mL。

2.4.2 精密度试验:取上述对照品溶液(16 μg/mL),重复进样 5次,测定藤黄酸峰面积,计算得

* 收稿日期: 2002-04-08

* 中国药科大学天然药物化学教研室

** 中国药科大学药物化学教研室