

表 1 阿克苏黄芪中黄芪多糖含量测定结果 (n= 3)

Table 1 Content of polysaccharide in *A. aksuensis* (n= 3)

样 品	多糖含量/%
1	2.29
2	2.27
3	2.31
4	2.26
5	2.27

5 讨论

5.1 本实验采用端基法来测定样品中所含可测端基数,由质量计算出样品的相对分子质量。

5.2 本实验中所提取的阿克苏黄芪多糖,经检定为葡聚糖,含量仅 2.28% (n= 3),显著低于蒙古黄芪

中多糖含量。

References:

- [1] Xinjiang Institute of Biology Soil and Desert, Chinese Academy of Sciences *Xinjiang Flora of Medicament and Plant* (新疆药用植物志) [M]. 3rd ed. Urumqi: Xinjiang People's Press, 1984.
- [2] Zhang W J. *Research Technique of Compound Polysaccharide* (复合多糖生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [3] Yang F Z, Xie H M. Determination of polysaccharide in *christina loosestrife* herb by spectrophotography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (Suppl): 97-98.
- [4] Cheng Y X, Zhang Z S. Problem and solution of determination of polysaccharide in *A stragalus* [J]. *Res Tradit Chin Med* (中医药研究), 1993 (5): 56-58.

茯苓萜类的高效液相色谱指纹图谱研究

杨 冉¹, 李建军¹, 屈凌波¹, 相秉仁², 安登魁^{2*}

(1. 郑州大学 化学系, 河南 郑州 450052; 2. 中国药科大学 分析中心, 江苏 南京 210009)

摘 要:目的 建立茯苓三萜化合物的指纹图谱。方法 反相高效液相色谱法。结果 道地药材茯苓及不同地区收集的市场商品具有相当稳定的、相似程度很高的指纹图谱。结论 可利用液相色谱的特征峰控制茯苓及其制剂的质量。

关键词: 茯苓; 高效液相色谱; 指纹图谱

中图分类号: R284.1

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)03-0273-03

Studies on fingerprint of terpenoid in *Poria cocos* by HPLC

YANG Ran¹, LI Jian-jun¹, QU Ling-bo¹, XIANG Bing-ren², AN Deng-ku²

(1. Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Center of Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: *Poria cocos* (Schw.) Wolf; HPLC; fingerprinting

茯苓为多孔菌科植物茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,具有渗湿利尿、和胃健脾、宁心安神、增强机体抗病能力的功效。其主要化学成分为多糖、三萜、脂肪酸、甾醇、酶等。中外学者对茯苓的化学成分及生物活性进行研究,发现其所含的大量三萜类物质具有免疫调节、抗肿瘤、拮抗鞣固酮,诱导分化白血病细胞系 HL-60 等很好的药理活性^[1-4]。建立茯苓三萜类的分析测定体系对于茯苓药材内在质量的控制具有重要意义,但鉴定单一的化学成分不能代表其特有的功效,也不能全面地反映其内在质量。研究表明,其甲醇提取物具有很好的药理活性。本实验着重对不同产地茯苓的甲醇提取物进行

了液相色谱指纹图谱的比较研究,以探求其呈现的特征峰群,为茯苓中药材的鉴定和质量控制提供科学依据。

1 材料与仪器

茯苓药材为安徽、湖北、河南、四川、浙江等市场商品,共 9 个样品,经鉴定均为多孔菌科真菌茯苓 *P. cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核。

Water 1100 型液相色谱仪, DAD 检测器,数据处理工作站。

2 方法

2.1 色谱条件: 色谱柱: TSK gel ODS—80 C₁₈ (150 mm × 4 mm, 4.5 μm); 流动相: 甲醇水溶液进行梯

* 收稿日期: 2003-06-10

作者简介: 杨 冉(1976—),女,河南西峡县人,郑州大学化学系研究生,主要进行中药质量控制和分析研究。

度洗脱, 0~ 25 min 由 80% 甲醇水溶液增加到 95% 甲醇水溶液, 然后保持 5 min; 流速: 0.8 mL /min; 检测波长: 230 nm; 温度: 25 。在上述条件下对各样品进行了分析, 茯苓的 HPLC 指纹特征峰见图 1。

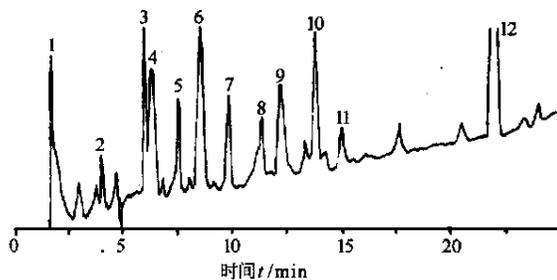


图 1 茯苓的 HPLC 指纹特征峰

Fig 1 HPLC fingerprint of *P. cocos*

2.2 供试品溶液的制备: 取茯苓药材 5 g 粉碎, 过 100 目筛, 加 100 mL 甲醇, 水浴回流 2 h, 放置, 取上清液, 0.45 μm 膜过滤器滤过, 所得滤液即为供试品溶液。

2.3 参比组份的选取: 为消除测定结果的系统误差, 选定能够与其他组份很好分离、峰形对称、保留时间为 8.685 min 的 6 号峰作为内参比组份, 以便计算同种茯苓共同特征组份的相对保留时间和相对含量。

2.4 方法学验证: 为了考察分析方法的可靠性, 以安徽产茯苓药材样品为例进行考察。

2.4.1 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 24, 72, 96 h 进行检测, 考察各主要色谱峰与内参比峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰相对保留时间的 RSD 为 0.2% ~ 0.7%。

2.4.2 精密度试验: 取同一份供试品溶液, 连续进样 6 次, 考察各主要色谱峰与内参比峰相对保留时间和相对面积的一致性, 各色谱峰保留时间的 RSD 为 0.12% ~ 0.3%, 相对面积的 RSD 小于 5%。

2.4.3 重现性试验: 取同一批号的供试品 5 份, 同法检测, 考察各主要色谱峰与内参比峰相对保留时间和相对面积的一致性, 各色谱峰相对保留时间的 RSD 为 0.2% ~ 0.5%。

3 茯苓 HPLC 相对保留指纹图谱的建立

3.1 相对保留值 α 的计算: 茯苓三萜类化合物液相色谱可分离出 20 余个成分, 从中选取经比较所有测定和记录的色谱图, 在观察众多样品色谱图的基础上, 根据能否构成“指纹”为根据选取 12 个作为可以构成指纹图谱的稳定的特征峰。在本实验条件下, 色谱峰较多且相当密集, 难以插入一个合适的参照物,

故选择一个分离较好, 出峰居中的特征峰 6 号峰作为内参照峰, 求出样品中特征峰的相对保留值 α (α= t_{Ri}/t_{Rs})。

3.2 α 值窗口的设定: 由于保留时间受各种实验因素的影响, 每一次实验数据不可能完全一致, 所以对每个峰位的 α 值设定为 2%, 即取可信限在 ± 2% 的范围内。

3.3 指纹谱的建立: 按样品各色谱峰 α 值的大小次序排序, 在每个 α 项下标出各组份的相对面积值 (RA), 就组成了样品的 HPLC 相对保留值指纹图谱。对不同样品中具有相同 α 值的峰的 RA 值进行比较, 可以获知所对应的化合物在各个样品中的相对含量, 达到半定量分析的目的。以 6 号峰为内参照峰的茯苓药物的色谱指纹谱的特征峰见表 1。

$$RA = A_x \times 100 / A, A \% = A_x / A$$

RA - 相对面积值, A - 总峰面积, A_x - 某个特征峰的面积, A_x - 样品所有特征峰的面积

表 1 不同茯苓药材的 HPLC 相对保留值指纹图谱数据
Table 1 Relative retention time of HPLC fingerprints of *P. cocos*

α	样品峰 RA								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.342	6.30	4.74	5.88	1.12	2.30	5.45	4.10	5.59	2.99
0.471	4.75	3.49	5.82	2.88	1.42	5.25	4.61	5.03	3.81
0.708	2.24	10.61	5.39	7.19	7.88	9.08	6.88	9.70	7.86
0.747	2.20	4.50	10.80	4.94	4.01	6.53	6.46	6.84	5.53
0.880	6.03	4.75	6.85	3.94	6.53	8.27	10.10	7.22	9.03
1.000	13.98	10.69	9.71	10.47	10.04	10.49	10.63	10.68	10.94
1.145	2.10	2.72	2.26	3.88	2.85	2.30	3.07	1.99	3.99
1.320	6.49	4.86	3.96	3.46	4.01	2.92	3.03	3.75	4.33
1.428	2.67	4.02	8.39	6.49	7.71	2.96	3.70	4.26	7.53
1.602	9.25	10.26	1.22	8.86	8.02	7.65	7.23	6.90	6.88
1.737	1.77	1.33	0.87	1.81	1.28	1.45	1.37	1.31	1.06
2.536	2.66	13.99	11.60	23.68	5.83	5.73	3.31	2.93	4.99
A / %	60.44	75.91	72.75	78.72	61.88	68.08	64.49	66.2	68.94

4 结果与讨论

4.1 供试品溶液的配制: 茯苓药材中的有效成分主要为水溶性的糖类和脂溶性的萜类, 由于近些年来人们对其进行的大量研究主要集中在脂溶性萜类部分, 因此本实验也针对这一部分进行研究, 实验过程中对其甲醇和乙醚的提取物分别进行了考察, 发现甲醇提取物的成分多, 因此对甲醇提取物进行了研究。

4.2 流动相的选择: 茯苓醇提取物的成分多, 在等梯度条件下, 某些有效成分出峰时间太长, 故选用梯度洗脱, 考虑到梯度洗脱基线漂移对实验的影响, 进行了空白对照实验。

4.3 色谱相对保留值: 色谱相对保留值是一组仅与化合物性质、色谱分离条件相关的半定量参数, 当色

谱分离条件固定时, 仅与化合物性质有关, 可以消除人和仪器设备对化合物保留时间的影响, 依此为依据, 建立样品指纹图谱可使获得的样品信息更准确。

4.4 指纹图谱的整体性和模糊性: 色谱指纹图谱用于中药鉴别, 提供的信息较用任何单一化学对照品作为鉴别的依据要丰富的多。本实验基于整体色谱的面貌辨认样品的真实性出发, 选取了 12 个特征峰, 它们的峰位和大致的比例关系, 作为一个整体, 清楚地表达了指纹图谱鉴别的专属性。样品之间的差异没有影响到对茯苓指纹图谱整体面貌的“共性

特征”, 不影响真实性的判断。

References:

[1] Xu J, Lü D, Zhong Q P. To leukemic L 1210 cell of mouse by poriation [J]. *Acta Acad Med Sin* (中国医学科学院学报), 1988, 10(1): 45-49.
 [2] Li D D, Ming X Y, Zhen Y S. Enhancement of anticancer drugs activities by poriation [J]. *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 1990, 15(1): 63.
 [3] Feng W R, Sun X J, Hu R J. Pharmacological activity and clinical application of *Poria cocos* Wolf [J]. *J Tianjin Med Univ* (天津医科大学学报), 1995, 1(1): 95-97.
 [4] Zhong Z J, Liu J. Study progress in triterpenes of *Poria cocos* and its pharmacology [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(1): 58-62.

桃花止泻冲剂中干姜油 β -环糊精包合工艺研究

赵艳玲, 山丽梅, 肖小河, 周韶华, 袁海龙, 蔡光明, 贺承山*

(中国人民解放军 302 医院 药学部, 北京 100039)

摘要: 目的 研究桃花止泻冲剂中干姜油 β -环糊精最佳包合工艺。方法 采用正交试验法, 以油利用率、含油率、包合物收得率为指标进行比较, 并采用薄层色谱(TLC)、差热分析(DSC)、红外光谱(IR)、显微镜成像验证包合物的形成。结果 饱和水溶液法最佳包合条件: β CD 和油的比例为 6:1, 包合温度为 50℃, 包合时间为 2 h, 该条件下的挥发油利用率和包合物得率最高。结论 该包合工艺可用于干姜油的 β -环糊精包合。

关键词: 干姜油; β -环糊精包合; 薄层色谱; 差热分析

中图分类号: R 283.6; R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)03-0275-03

Study on optimum preparation technique of β -cyclodextrin inclusion for volatile oil from dried ginger in Taohua Anti-diarrhea Granula

ZHAO Yan-ling, SHAN L i-mei, XIAO Xiao-he, ZHOU Shao-hua,

YUAN Hai-long, CA I Guang-ming, HE Cheng-shan

(Department of Pharmacy, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

Key words: volatile oil from dried ginger; β -cyclodextrin inclusion; TLC; differential thermal analysis (DTA)

桃花止泻冲剂系在张仲景止泻名方桃花汤基础上进行的剂型研究。该制剂具有温中散寒、涩肠止泻的功效。其中干姜含有挥发油成分, 其性质不稳定, 容易挥发。为了提高药物的稳定性, 本实验就 β -环糊精(β CD)的包合特点^[1], 将干姜挥发油作客体, 用饱和水溶液法进行包合试验研究。分别以干姜挥发油的利用率、包合物中的油含率、包合物收得率为指标, 采用正交设计法筛选了桃花止泻冲剂中干姜油 β -环糊精包合工艺。

1 材料和仪器

干姜挥发油(解放军 302 医院药学部提供), β

环糊精(陕西生物化学工业公司, 蒸馏水重结晶后干燥备用), 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂产品), 其余试剂均为分析纯。

挥发油测定器(上海玻璃仪器厂), D-7401-90 电动搅拌器(北京分析仪器厂), DB 602-E 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), CKS 倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 阿贝折光仪(北京光学仪器厂), CDR-1 热分析仪(上海分析仪器厂)。

2 实验方法

2.1 干姜挥发油的提取: 取干姜制成 2 mm 的粗粉, 加 8 L 蒸馏水, 浸泡过夜, 按《中华人民共和国药

* 收稿日期: 2003-05-30
 基金项目: 军队“十五”攻关课题(01Q 136)