

表1 不同牛膝炮制品中多糖的测定结果($n=6$)Table 1 Determination of polysaccharide in different processings of *Radix Achyranthis Bidentatae* ($n=6$)

炮制品	多糖/%	炮制品	多糖/%
生牛膝	6.05	酒制品	9.06
盐制品	8.20	牛膝炭	4.88

3 讨论

苯酚-硫酸法较为稳定,而且不同的多糖和单糖显色反应后显示不同的最大吸收峰,是较为理想的多糖测定方法^[5]。本研究利用苯酚-硫酸法对牛膝不同炮制品中多糖进行了测定,结果表明该方法比较可靠。

本研究通过测定牛膝不同炮制品中的多糖,发现炮制后牛膝中多糖发生变化,酒制牛膝及盐制牛膝中多糖均有不同程度的升高,而牛膝炭中多糖下降,这可能是由于高温使部分糖类成分炭化损失所

致。而酒炒后的牛膝中多糖有明显升高,这可能是酒炒后使牛膝中糖类有效成分溶解度增加。牛膝多糖是牛膝中主要化学成分,而药理活性必定与化学成分相联系,故不同炮制品中多糖的量不同,必定引起药理活性的不同。故有生牛膝侧重于活血通经、利水通淋,酒牛膝补肝肾,强筋骨,活血通经的力量增强,盐牛膝增强了入肾的力量,引药入肾,长于通淋,而牛膝炭主要是止血作用。

参考文献:

- [1] 陶家麒,王九一. 牛膝多糖工艺研究[J]. 中国医药工业杂志, 1995, 26(11): 481-482.
- [2] 刘颖华,何开泽,张军峰,等. 川牛膝多糖的分离、纯化及单糖组成[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(2): 141-145.
- [3] 方积年,张志花,刘柏年. 牛膝多糖的化学研究[J]. 药学报, 1990, 25(7): 526-529.
- [4] 齐慧玲,魏绍云,王继伦,等. Sevag 法去除白及多糖中蛋白的研究[J]. 天津化工, 2000(3): 20.
- [5] 钟方晓,任海华,李岩. 多糖含量测定方法比较[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1916-1917.

丹参中总酚酸测定的前处理方法研究

魏惠珍¹, 张洁¹, 饶毅^{2*}, 吴有根¹, 方海红¹, 陈银芳¹, 朱圣生¹

(1. 江西中医学院, 江西 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

丹参是唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根茎,其有效成分包括水溶性成分和脂溶性成分。脂溶性成分是以丹参酮为代表的醌类化合物,具有很好的抗炎作用;水溶性成分总称为总酚酸,主要有丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B^[1]。总酚酸具有明显的抗血栓形成、抗脂质过氧化和溶纤的作用,是治疗心绞痛、心肌缺血、心肌梗死等心血管病的有效成分,其中丹酚酸 B 的量最高,而且是主要的活性成分。丹参总酚酸的前处理方法多采用酸提或提取完后调 pH 值至 2 左右^[2~8],提取效率低。因此本实验对丹参中总酚酸的前处理方法进行了改进,并同时采用比色法和高效液相色谱法对丹参总酚酸进行了测定。

1 仪器与材料

日本岛津 UV2550 紫外分光光度计; Waters 2695 高效液相色谱仪, Empower 色谱工作站; 日本岛津 LC10Atp 高效液相色谱仪。

原儿茶醛、丹酚酸 B、丹参素钠对照品均购于中国药品生物制品检定所; 乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,去离子水。丹参药材产自山东,经笔者鉴定为丹参 *S. miltiorrhiza* Bunge 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 总酚酸的比色法测定: 取样品溶液 0.2 mL 于 10 mL 量瓶中, 分别加入 5% NaNO₂ 0.5 mL、10% Al(NO₃)₃ 0.5 mL、4% NaOH 溶液 4 mL, 用水补足至刻度, 立即进行紫外扫描。以缺 NaOH 溶液的样品溶液作参比, 置 1 cm 的吸收池中, 在 500 nm 处测定吸光度, 以丹酚酸 B 计, 按线性回归方程计算。

2.2 总酚酸的 HPLC 法测定

2.2.1 色谱条件: 色谱柱为伊利特 ODS₂; 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱 (0~15 min, 5% 乙腈; 16~30 min, 25% 乙腈); 检测波长 281 nm; 进样量: 10 μ L。

2.2.2 测定: 配制适宜质量浓度的各对照品溶液,

收稿日期: 2008-02-25

作者简介: 魏惠珍 (1965—), 女, 江西南昌人, 副主任药师, 研究方向: 中药质量控制。

Tel: (0791) 7119625 E-mail: weihuizhen_101@126.com

* 通讯作者 饶毅 Tel: (0791) 7119609 E-mail: raoyi99@126.com

采用外标两点法分别测定丹酚酸 B、原儿茶醛和丹参素(以丹参素钠计)的量,以 3 种成分的量之和作为总酚酸的量。

2.3 丹参中总酚酸的测定:取丹参药材,粉碎至 40 目细粉,取 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入提取溶剂 100 mL,称定质量,超声处理 1 h 后,取出,放冷,再称定质量,用原溶剂补足减失的质量,摇匀,滤过。取续滤液稀释至适宜质量浓度,分别采用 HPLC 法和比色法测定。

2.4 溶剂的 pH 值对提取率影响的考察:分别用水、2% 盐酸水溶液、盐酸-甲醇(2:75)溶液及 75% 甲醇溶液进行提取,结果见图 1、2。可见丹参总酚酸在不同的提取溶液中的提取率为 75% 甲醇>水>盐酸-甲醇(2:75)溶液>2% 盐酸水溶液,且将提取液分别调 pH 值至酸性后,丹参总酚酸类成分的提取率均大幅下降,故提取溶剂应为中性溶剂。

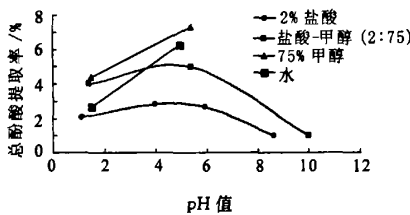


图 1 比色法测得的不同 pH 值对丹参总酚酸提取率的影响

Fig. 1 Effects of various pH values on total phenolic acid yields of *S. miltiorrhiza* by chromatometry

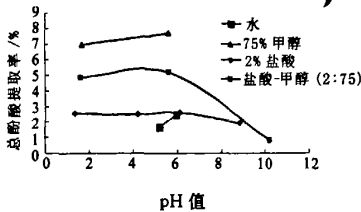


图 2 HPLC 法测得的不同 pH 值对丹参总酚酸提取率的影响

Fig. 2 Effects of various pH values on total phenolic acid yields of *S. miltiorrhiza* by HPLC

2.5 提取方式的考察:分别用甲醇及水作提取溶剂,回流 1 h 或超声 1 h,结果见表 1。可见甲醇超声时丹参总酚酸在比色法和 HPLC 法中测得的提取率均最高,且超声方法简单、易行,故采用甲醇超声提取最佳。

2.6 提取溶剂的考察:用不同体积分数的甲醇提取 4 份,分别计算总酚酸,确定甲醇的体积分数,结果见表 2。可见比色法和 HPLC 法测得 75% 甲醇超声时总酚酸的量最高,提取效果最好。

表 1 不同提取方式对丹参中的总酚酸测定的影响

Table 1 Effects of different extraction methods on total phenolic acid in *S. miltiorrhiza*

提取方法	总酚酸/% (UV)	HPLC			
		丹参素钠	丹酚酸 B	原儿茶醛	总酚酸
		/%	/%	/%	/%
水回流	7.27	2.14	5.06	0.14	7.34
水超声	6.57	0.59	5.09	0.00	5.68
甲醇回流	7.12	0.83	6.32	0.00	7.15
甲醇超声	7.34	0.59	6.87	0.00	7.46

表 2 不同体积分数甲醇对提取的丹参中总酚酸的影响

Table 2 Effects of different extracted concentration MeOH on total phenolic acid from *S. miltiorrhiza*

甲醇体积 分数/%	总酚酸/% (UV)	HPLC			
		丹参素钠	丹酚酸 B	原儿茶醛	总酚酸
		/%	/%	/%	/%
100	7.17	0.56	6.26	0.00	6.82
75	7.53	0.54	6.96	0.00	7.50
50	7.60	0.51	6.58	0.00	7.09
25	6.73	0.73	5.83	0.00	6.56

2.7 提取时间的考察:用 75% 甲醇超声 20、30、40、60 min,结果见表 3。可见超声 30 min 提取率最高。

由上可知,丹参总酚酸的最佳提取条件:取丹参粉末 0.1 g,加入 75% 甲醇溶液 100 mL 超声 30 min,放冷后,滤过,定容到 100 mL,即得。

表 3 不同超声时间提取对丹参中总酚酸测定的影响

Table 3 Effects of different extraction times on total phenolic acid from *S. miltiorrhiza*

超声时间 /min	总酚酸/% (UV)	HPLC			
		丹参素钠	丹酚酸 B	原儿茶醛	总酚酸
		/%	/%	/%	/%
20	7.42	0.48	6.78	0.00	7.26
30	7.51	0.52	6.92	0.00	7.44
40	7.46	0.49	6.88	0.00	7.37
60	7.03	0.65	6.70	0.00	7.35

3 讨论

丹参总酚酸测定的经典方法以原儿茶醛为对照品比色法测定^[9],但丹参中原儿茶醛的的量较低,以其作为对照品不能有效反映样品质量。本实验中采用了含有较多且不稳定的丹酚酸 B 作为对照品,可以清晰反映出总酚酸的变化。同时采用 HPLC 法测定丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参素钠,与比色法同时进行比较,可以避免比色法中造成测定不准的因素,较好地确定总酚酸的量。

比色法中空白多为加入显色剂不加样品的溶液,但许多样品溶液中含紫外吸收的成分,因此空白不能

(下转第 1253 页)

(8.32%)、北京2号(7.10%)，质量分数较低的有9302(4.87%)、狮子头(4.11%)、金状元(2.48%)、85-5(1.58%)，最高质量分数与最低质量分数之间有约8倍的差异。这提示即使同在道地产区，不同品种仍然可能造成地黄质量的较大差异。地黄不同品种间多糖质量分数与梓醇质量分数之间并无对应规律。如同为梓醇质量分数较高的品种，北京1号(梓醇质量分数3.9%)的多糖质量分数很高，而9302(梓醇质量分数4.3%)所含多糖的质量分数却较低。但已知具有亲缘关系的金状元和85-5(金状元为85-5的父本)的多糖质量分数非常相近，这与其梓醇量也非常相近的结果是一致的。从多糖的质量分数上来看，北京1号和85-5表现出比较明显的不同特性，可以作为品种选育的依据之一。

地黄多糖作为地黄的重要活性成分之一，化学性质比较稳定，理论上是较为理想的地黄质量控制指标。但由于多糖的提取和测定方法误差较大，所以长期以来很少被用于地黄的质量控制中。本实验采

用80%乙醇除杂，超声水提获取地黄多糖，然后用苯酚-硫酸比色法测定其质量分数，与提取粗多糖的质量分数测定方法相比，方法简便可行，准确度有所提高。但相对于其他的质量控制方法(如HPLC等)，多糖提取和质量分数测定方法还需要进一步改进和提高。

参考文献：

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 边宝林,王宏洁,王宏生.地黄及其炮制品中总糖及几种主要糖的含量测定[J].中国中药杂志,1995,20(8):469-471.
- [3] 崔瑛.地黄药理研究进展[J].中国自然医学杂志,2000,2(3):186-188.
- [4] 王敏,刘红彦,黄璐琦,等.道地产区地黄不同品种含梓醇量的比较[J].中草药,2002,37(3):444-446.
- [5] 田春莲,廖博儒,陈建华,等.湖北地黄多糖超声波提取工艺条件及含量测定研究[J].时珍国医国药,2007,18(1):37-39.
- [6] 李红霞,许岗.怀地黄多糖的含量测定[J].河南科学,2002,20(2):144-146.
- [7] 张留记,屠万倩.怀地黄品种比较和质量研究[J].河南农业科学,2007,3:101-102.

(上接第1183页)

排除样品带来的干扰。本实验中样品溶液在加入最后一种显色剂NaOH溶液时显色，故以样品溶液缺NaOH显色的溶液为空白溶液，不仅扣除了样品的干扰，而且最大限度地排除了显色剂带来的干扰。

根据相似相溶原理，酸性溶剂应有利于总酚酸的提取。由本实验所测的数据来看，提取溶液的pH值为酸性时，测得丹参总酚酸的量由中性时的6%下降至2%左右，可能与其离子相互作用有关。丹参总酚酸通用的方法是在提取时用酸提或是提取完后调pH值至2左右，其总酚酸的量一般都在2%~3%，与本实验加酸处理的结果相近。文献报道丹参中丹酚酸B的量一般都在5%左右^[10]。本实验测得的总酚酸在7%左右，HPLC法与比色法测得的结果一致，故该实验方法可靠，结果可信。

本实验采用甲醇和水分别超声和回流提取，其中甲醇对丹酚酸B的提取率较高，虽然回流对丹参素钠的提取率高，但丹酚酸B不稳定不宜用回流，甲醇超声时丹参总酚酸在比色法和HPLC法中测得的提取率均最高，且超声方法简单、易行，综合评价甲醇超声提取最佳。

本实验对丹参药材中总酚酸的前处理方法进行了探讨，结果令人满意。从而为提高丹参总酚酸提取率，减少样品前处理时间，降低实验成本提供了可行性方法。

参考文献：

- [1] 凌海燕,鲁学照.丹参水溶性成分的研究概况[J].天然产物研究与开发,1997,11(1):75-81.
- [2] 刘军凯,安连英,顾娟.正交设计考察丹参总酚酸水提取工艺[J].中成药,2007,29(1):143-144.
- [3] 王文祥,周巧霞.比色法测定丹参及提取物水溶性总酚的改进[J].中草药,2001,32(8):711-712.
- [4] 李广胜,王光新.丹参口服液中总酚酸性成分的含量测定[J].时珍国医国药,2001,12(8):683-684.
- [5] 顾洪安,余琛.HPLC法测定丹参中丹酚酸B的含量[J].药学服务与研究,2002,2:302-304.
- [6] 李静,何丽,宋万志.丹参中水溶性酚酸类成分的薄层扫描测定法[J].药学学报,1993,28(7):543-547.
- [7] 徐宝才,丁霄霖.苦养黄酮的测定方法[J].无锡轻工大学学报,2003,22(2):98-101.
- [8] 倪学斌,苏静.丹参地上部分有效成分的初步分析[J].中国药学杂志,1995,30(6):336-338.
- [9] 李朝霞,王地.丹参水溶性成分的研究进展[J].北京中医,2004,23(3):176-178.
- [10] 王凤美,李磊.丹参药材中丹酚酸B的提取及其HPLC法测定[J].现代中药研究与实践,2004,18B(12):62-64.

丹参中总酚酸测定的前处理方法研究

作者: 魏惠珍, 张洁, 饶毅, 吴有根, 方海红, 陈银芳, 朱圣生
作者单位: 魏惠珍, 张洁, 吴有根, 方海红, 陈银芳, 朱圣生(江西中医学院, 江西南昌, 330004), 饶毅(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西南昌, 330006)
刊名: 中草药 
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2008, 39(8)
被引用次数: 1次

参考文献(10条)

1. 凌海燕; 鲁学照 丹参水溶性成分的研究概况 1997(01)
2. 刘军凯; 安莲英; 顾娟 正交设计考察丹参总酚酸水提取工艺[期刊论文]-中成药 2007(01)
3. 王文祥; 周巧霞 比色法测定丹参及提取物水溶性总酚的改进[期刊论文]-中草药 2001(08)
4. 李广胜; 王光新 丹参口服液中总酚酸性成分的含量测定[期刊论文]-时珍国医国药 2001(08)
5. 顾洪安; 余琛 HPLC法测定丹参中丹酚酸B的含量[期刊论文]-药学服务与研究 2002(z1)
6. 李静; 何丽; 宋万志 丹参中水溶性酚酸类成分的薄层扫描测定法 1993(07)
7. 徐宝才; 丁霄霖 苦养黄酮的测定方法[期刊论文]-无锡轻工大学学报 2003(02)
8. 倪学斌; 苏静 丹参地上部分有效成分的初步分析 1995(06)
9. 李朝霞; 王地 丹参水溶性成分的研究进展[期刊论文]-北京中医 2004(03)
10. 王凤美; 李磊 丹参药材中丹酚酸B的提取及其HPLC法测定[期刊论文]-现代中药研究与实践 2004(12)

本文读者也读过(9条)

1. 孙国祥, 孙金山, 赵新. SUN Guo-xiang, SUN Jin-shan, ZHAO Xin 丹参水溶性成分HPLC数字化指纹图谱研究[期刊论文]-中南药学2008, 6(3)
2. 王博, 伏劲松, 蔡光华, 杨梅, 王晓玲, WANG Bo, FU Jin-song, CAI Guang-hua, YAN Mei, WANG Xiao-ling 香柏总酚酸的含量测定[期刊论文]-西南民族大学学报(自然科学版) 2010, 36(4)
3. 李朝霞, 王地 丹参水溶性成分的研究进展[期刊论文]-北京中医2004, 23(3)
4. 陈贤春, 吴清, 李冀湘, CHEN Xian-chun, WU Qing, Li Ji-xiang 大孔吸附树脂富集丹参总酚酸的工艺研究[期刊论文]-中国中药杂志2007, 32(12)
5. 刘峰群, 曹红, 靳守东, 金城, 崔燕 比色法测定消癌平注射液中总酚酸的含量[期刊论文]-华西药学杂志 2003, 18(3)
6. 刘少华, 金郁, 周大勇, 任玲玲, 金高娃, 梁鑫淼, Liu Shaohua, Jin Yu, Zhou Dayong, Ren Lingling, Jin Gaowa, Liang Xinmiao 超高效液相色谱(UPLC)用于丹参药材水溶性成分指纹图谱研究[期刊论文]-世界科学技术-中医药现代化2007, 9(6)
7. 唐旭利, 刘静, 李国强, 钟惠民, TANG Xu-li, LIU Jing, LI Guo-qiang, ZHONG Hui-min 丹参药材水溶性成分HPLC化学指纹图谱研究[期刊论文]-中成药2008, 30(3)
8. 吕志刚, 徐列明 丹酚酸B的药理研究概况[期刊论文]-医学研究杂志2008, 37(8)
9. 刘洋, 石任兵, 刘斌, 宋文婷, LIU Yang, SHI Ren-bing, LIU Bin, SONG Wen-ting 丹参药材化学成分HPLC指纹图谱研究[期刊论文]-北京中医药大学学报2006, 29(3)

引证文献(1条)

1. 王小平, 刘峰, 韩翠, 张勤 丹参总酚酸提取工艺的优化[期刊论文]-云南中医学院学报 2010(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808024.aspx