

表 3 13 批白术药材与对照指纹图谱之间的相似度

Table 3 Similarities of 13 batches of samples compared with reference fingerprint

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.999	S8	0.997
S2	0.999	S9	1
S3	1	S10	0.996
S4	1	S11	0.999
S5	0.990	S12	0.999
S6	0.996	S13	1
S7	0.999	对照指纹图谱	1

要求。但各共有峰在不同产地中丰度差异较大,其中只有参照物峰(S)的峰面积占总峰面积 10% 以上,其余峰面积均小于 10%,其比值范围不作要求。

3 讨论

3.1 本实验在样品制备、测试条件方面经过大量实验探索,通过对色谱图全貌(出峰数、分离度等)的反复考察,认为目前所选用的测试条件较为理想。方法学考察结果表明,仪器精密度高,样品稳定性、重现性亦较好,谱图中各组分的相似度极高,从而说明

该方法建立的指纹图谱准确可靠,特征指纹信息丰富,专属实用,这对从挥发性成分角度判断白术药材的质量有一定的参考价值。

3.2 不同产地白术中均含有石竹烯等 18 种成分,占挥发性总成分的 90% 以上,具有突出的代表性,故以此 18 个特征性指标成分作为共有特征峰建立白术 GC-MS 指纹图谱。苍术酮高达 60% 以上,为最突出的指标,故以此作为参照峰分析指纹图谱。当然以上 18 种成分是否能完全揭示白术挥发性成分的特征,还有待进一步深入研究,还需要考虑栽培条件、采收加工、储藏等多种因素的影响。

3.3 本实验初步建立了白术挥发性成分的 GC-MS 指纹图谱的分析方法,为白术药材质量评价方法和 GAP 实施提供参考依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 崔庆新,董岩,王怀生. 白术挥发油化学成分的 GC/MS 分析[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(1): 124-126.

道地产区地黄不同品种间多糖量的比较

李晓琳¹, 王敏¹, 刘红彦², 黄璐琦^{1*}, 王飞², 吴志刚¹

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 河南农业科学院植物保护研究所, 河南 郑州 450002)

摘要:目的 比较道地产区不同品种地黄中多糖的量。方法 苯酚-硫酸比色法, 线性范围 5.3~106.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.9997$)。结果 以葡萄糖计, 北京 1 号、大红袍、红薯王、北京 2 号、9302、狮子头、金状元、85-5 地黄中多糖质量分数分别为: 12.73%、10.04%、8.32%、7.10%、4.87%、4.11%、2.48%、1.58%。结论 不同品种地黄中多糖的量差异明显, 其中以北京 1 号中多糖的量最高。

关键词: 地黄; 多糖; 苯酚-硫酸法

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1251-03

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根^[1], 是常用中药, 具有滋阴清热、补血止血等功效。地黄多糖作为地黄的重要活性成分^[2], 具有增强免疫力、抗肿瘤、抗衰老、促进造血机能、降血糖等活性^[3]。地黄主产于河南, 以旧称“怀庆府”的河南温县、武陵、博爱等地为道地产区, 称为“怀地黄”。目前地黄的栽培品种较多, 仅从温县境内收集到的地黄品种就多达十余种。这些栽培品种是否存在品质上的差异, 是需要深入探讨的

问题。本课题组曾比较了温县的 8 个栽培品种梓醇量的差异^[4], 结果表明不同品种在梓醇量上表现出不同的特性。本实验在此基础上采用苯酚-硫酸法考察上述不同品种的地黄多糖量, 从而研究其品质差异。

1 仪器、试剂与材料

PGENERAL T6 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); 5810R 低温离心机(德国 Eppendorf 公司); KQ-100 DE 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。无水葡萄糖, 分析纯(购自国

收稿日期: 2007-12-24

基金项目: 国家科技部基础性工作专项重点项目 2001DEA20010

作者简介: 李晓琳(1979—), 女, 辽宁省鞍山市人, 中国中医科学院中药研究所实习研究员, 从事中药分析和生药学研究。

Tel: (010) 64014411-2956 E-mail: water_in_sky_koala@yahoo.com.cn

* 通讯作者 黄璐琦 Tel: (010) 64014411-2853 E-mail: huangluqi@263.net

药集团化学试剂有限公司),苯酚、硫酸、无水乙醇等试剂均为分析纯。

8个地黄栽培品种分别为:北京1号、大红袍、红薯王、北京2号、9302、狮子头、金状元、85-5,均于2002年收集自河南省温县,由河南省温县农业科学研究所王乾璐研究员鉴定后栽种在该研究所试验田中,统一管理,同时采收,并置烘箱中于60℃干燥。取不同品种地黄的完整、干燥块茎逐个称量,取其中单株质量为10.0~16.7g的块茎进行粉碎(此质量范围内符合地黄商品药材四等品的范畴),过80目筛,充分混匀,置干燥器中备用。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:精密称取地黄样品粉末0.2g,加80%乙醇40mL,25℃超声提取2次,每次超声时间60min,以除去单糖、低聚糖、脂类等成分。提取后在2000r/min下离心20min,弃去溶剂,残渣挥干溶剂后,加入40mL蒸馏水,50℃超声30min,重复提取2次,滤过,合并2次滤液,移至100mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,作为供试品贮备液。测量前取0.2mL供试品贮备溶液置于具塞试管中,用蒸馏水稀释至2mL作为供试品溶液。

2.2 标准葡萄糖溶液的制备:精密称取105℃干燥至恒重的无水葡萄糖10.6mg,置100mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得0.106mg/mL的标准葡萄糖溶液。

2.3 5%苯酚试剂的制备:取苯酚100g,铝片0.1g,碳酸氢钠0.05g,混合,常压蒸馏,收集180~182℃的馏分,精密称取馏分5.0g,加100mL蒸馏水溶解,摇匀,置棕色瓶内放冰箱备用。

2.4 标准曲线的绘制:精密量取标准葡萄糖溶液0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL分别置于具塞试管中,加水至2mL,加5%苯酚溶液1mL,摇匀,迅速加入浓硫酸5mL,置60℃水浴中加热10min,取出置冷水浴中冷却5min。另以蒸馏水2mL作空白,在490nm处测定吸光度,以浓度与吸光度作线性回归,回归方程 $Y = 7.8 \times 10^{-3} X + 6.9 \times 10^{-3}$, $r = 0.9997$ 。结果表明葡萄糖在5.3~106.0μg/mL线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密称取大红袍样品粉末0.2g,按供试品溶液的制备方法和标准曲线的绘制项下的测定方法,测定吸光度,连续测定5次,RSD为0.22%,表明精密度良好。

2.6 重现性试验:精密称取大红袍样品粉末5份,各约0.2g,按样品溶液制备方法制备供试品,按标

准曲线绘制项下方法测定吸光度,RSD为2.64%,表明重现性良好。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,按标准曲线绘制项下方法测定吸光度,每隔30min测定1次,重复5次,结果表明,供试品溶液在4h内稳定性良好,RSD为2.64%。

2.8 加样回收率实验:精密称取大红袍样品粉末5份,每份约0.1g,分别加入不同量的葡萄糖对照品(加入葡萄糖标准品的量与样品中多糖量的比分别为1:1、2:1和2:3),按上述方法测定加样回收率,结果平均回收率为95.58%,RSD为2.74%。

2.9 样品测定:精密称取北京1号、大红袍、红薯王、北京2号、9302、狮子头样品粉末各约0.2g,金状元、85-5粉末各约0.4g,按供试品溶液制备方法制备供试品,按标准曲线绘制项下方法测定吸光度,测定结果见表1。

表1 不同品种地黄多糖(n=5)

Table 1 Polysaccharide in different cultivars of *R. glutinosa* (n=5)

序号	品种	多糖/%	梓醇/% ^[4]
1	北京1号	12.73	3.892
2	大红袍	10.04	3.278
3	红薯王	8.32	3.252
4	北京2号	7.10	3.307
5	9302	4.87	4.258
6	狮子头	4.11	2.934
7	金状元	2.48	2.966
8	85-5	1.58	2.913

3 讨论

目前有关地黄多糖质量分数测定的文献相对较少,且文献报道的地黄多糖量差异较大^[5~7]。如纪耀华等^[6]测定的生地黄酒多糖质量分数为16.95%,而张留记等^[7]测得不同品种的怀地黄多糖质量分数在1.14%~2.21%^[7]。分析这种差异的原因,可能是由于地黄的不同生长状况、不同加工处理方法、不同的量测定方法等造成的。为排除试验样品由于来源、状态或加工处理方法等不同所产生的误差,本实验将不同品种的地黄栽种在同一块试验田中统一管理和采收,并采用相同的温度进行干燥,取样时选取大致相同的块茎大小,尽量扩大取样量,并在粉碎后将粉末充分混匀,以尽量保证各品种的客观条件基本平行,使测定结果更客观、更真实地反映不同品种地黄之间的多糖质量分数的差异。

测定结果表明,在所分析产区的8个主要品种之间多糖质量分数差异较大,质量分数较高的有北京1号(12.73%)、大红袍(10.04%)、红薯王

(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.

道地产区地黄不同品种间多糖量的比较

作者：[李晓琳](#)，[王敏](#)，[刘红彦](#)，[黄璐琦](#)，[王飞](#)，[吴志刚](#)
作者单位：[李晓琳,王敏,黄璐琦,吴志刚\(中国中医科学院中药研究所,北京,100700\)](#)，[刘红彦,王飞\(河南农业科学院植物保护研究所,河南郑州,450002\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (8)

参考文献(7条)

1. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 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](#) 1995 (08)
3. [崔瑛](#) [地黄药理研究进展](#) 2000 (03)
4. [王敏;刘红彦;黄璐琦](#) [道地产区地黄不同品种含梓醇量的比较](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2002 (03)
5. [田春莲;廖博儒;陈建华](#) [湖北地黄多糖超声波提取工艺条件及含量测定研究](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2007 (01)
6. [李红霞;许闵](#) [怀地黄多糖的含量测定](#) [期刊论文]-[河南科学](#) 2002 (02)
7. [张留记;屠万倩](#) [怀地黄品种比较和质量研究](#) [期刊论文]-[河南农业科学](#) 2007 (3)

本文读者也读过(10条)

1. [六味地黄多糖体外对正常及衰老小鼠脾细胞免疫功能的影响](#) [期刊论文]-[中国药理学通报](#)1999, 15 (2)
2. [蔡光先.刘柏炎.林琳.杨辉](#) [地黄多糖诱导骨髓间充质干细胞分化为神经细胞最佳浓度探索](#) [期刊论文]-[中国中医急症](#)2007, 16 (2)
3. [赵素容.卢充伟.袁丽珍.吴祖泽.ZHAO Su-Rong.LU Yan-Wei.YUAN Li-Zhen.WU Chu-tse](#) [地黄多糖对小鼠免疫功能的影响](#) [期刊论文]-[军事医学科学院院刊](#)2006, 30 (3)
4. [吴亚军.朱颖.夏少秋.宋涛.赵越.WU Ya-jun.ZHU Ying.XIA Shao-qiu.SONG Tao.ZHAO Yue](#) [蒺藜-硫酸法测定六味地黄生物制剂中多糖含量的研究](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#)2011, 22 (1)
5. [姜帆.郑少泉.陈秀萍.许奇志.陈秀妹.翁郑利](#) [枇杷品种间多糖和总黄酮功效成分分析](#) [会议论文]-2005
6. [朱丽君.栾恩泮.栾国华](#) [加味地黄丸质量标准研究](#) [期刊论文]-[中国民康医学](#)2010, 22 (22)
7. [万军.施翠英.周霞.张良.WAN Jun.SHI Cui-ying.ZHOU Xia.ZHANG Liang](#) [HPLC测定杞菊地黄胶囊中的丹皮酚](#) [期刊论文]-[华西药学杂志](#)2007, 22 (4)
8. [杨辉.蔡光先.刘伯炎.肖政华](#) [从BMP4表达探讨地黄多糖诱导MSCs向神经细胞分化的机理](#) [期刊论文]-[湖南中医杂志](#)2011, 27 (3)
9. [郭东艳.王梅.张丽娟.李瑾](#) [生地黄汤不同制备方法多糖含量变化及止血作用的实验研究](#) [会议论文]-2010
10. [崔瑛.荣春蕾](#) [熟地黄多糖对MSG大鼠焦虑行为的影响](#) [会议论文]-2009

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808044.aspx