

生地与熟地中糖类和梓醇的比较研究

邱建国, 贾正平*, 张汝学, 盛 杰, 李茂星, 樊鹏程

(兰州军区兰州总医院 药材料, 甘肃 兰州 730050)

摘要:目的 对生地与熟地中的成分进行比较。方法 高效液相色谱法测定。采用水为溶剂, 超声提取糖类成分, 流动相用乙腈-水(72:28), 体积流量 1.0 mL/min, NH₂ 色谱柱分离, 示差折光检测器检测, 高效液相色谱法测定; 采用甲醇为溶剂, 超声提取梓醇, 流动相用甲醇-0.1% 磷酸溶液(1:99), 体积流量 1.0 mL/min, C₁₈ 色谱柱分离, 检测波长 210 nm。结果 生地与熟地的糖类成分基本一致, 只是量不同; 生地与熟地中梓醇的量存在显著性差异。结论 本方法分离效果好、准确、快速、干扰少, 适用于生地与熟地中糖类和梓醇的比较。

关键词:生地; 熟地; 糖类; 梓醇; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)07-1117-03

地黄为玄参科植物地黄的新鲜或干燥块根^[1]。鲜地黄清热生津、凉血、止血、用于热病伤阴, 舌绛烦渴, 发斑发疹, 吐血, 衄血, 咽喉肿痛。生地黄清热凉血、养阴、生津, 用于热病舌绛烦渴、阴虚内热、骨蒸劳热、内热消渴、吐血、衄血、发斑发疹。熟地黄滋阴补血、益精填髓, 用于肝肾阴虚、腰膝酸软、骨蒸潮热、盗汗遗精、内热消渴、血虚萎黄、心悸怔忡、月经不调、崩漏下血、眩晕、耳鸣、须发早白。现代药理研究发现, 地黄具有调节免疫功能, 影响血液系统、内分泌系统、中枢神经系统等各方面活性, 并具有抗衰老及降血糖等多方面功效。本课题组多年来对地黄的降血糖机制进行了研究, 发现其调节血糖的主要成分是地黄寡糖^[2]。文献报道环烯醚萜苷类中的梓醇可能是地黄降血糖作用的有效成分之一^[3]。加工炮制过程中有效成分的变化是其药性发生改变的根本原因, 因此本实验对炮制前后的地黄中梓醇和糖类进行了研究, 为地黄的炮制机制研究提供参考。

1 仪器与材料

SCL-6A 高效液相色谱仪, Shimadzu RID-6A 示差折光检测器(日本), Millennium³² 色谱管理系统; Waters 高效液相色谱仪, Waters996 紫外检测器, Waters600 泵; Mettler AE240 电子分析天平(瑞典), SK7200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司), FZQ-2 涡旋混合器(江苏泰县医疗器械厂), 微量进样器(上海安亭微量进样器厂)。

葡萄糖(北京化学试剂三厂), 果糖(中国药品生物制品检定所, 批号 1504-200001), 半乳糖(德国 EMERCK 公司), 棣二糖(Sigma-Aldrich, 批号

1362360), 蔗糖(北京化学试剂三厂), 棉子糖(西安舟鼎国生物技术有限公司, 批号 DH258), 水苏糖(United Kingdom, 批号 065K3775)。生地药材购于河南怀庆、河南新乡、河南西峡等地, 经兰州大学药学院曹宗钧教授鉴定, 与《中国药典》2005 年版一部正品相符, 熟地药材由同批生地根据《中国药典》2005 年版一部熟地黄“制法(2) 项蒸法”及附录 II D 炮制而成, 其他试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 糖类成分的 HPLC 法检测^[4,5]

2.1.1 色谱条件: 色谱柱为 Phenomenex NH₂ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测器为 Shimadzu RID-6A 示差折光检测器, 流动相为乙腈-水(72:28), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为室温, 进样量 20 μL。色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备: 分别称取葡萄糖、果糖、半乳糖、棣二糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖对照品 8 mg, 精密称定, 置 1.5 mL 离心管中, 精密加 1 000 μL 水溶解, 制成 8 mg/mL 的溶液, 0.45 μm 滤过, 得滤液, 备用。

2.1.3 供试品溶液的制备: 分别称取生地、熟地 1 g, 精密称定, 加水 20 mL, 超声提取 30 min, 放冷, 用水定容至 25 mL, 取 1 mL, 5 000 r/min, 离心, 上清液 0.45 μm 滤过, 得滤液, 备用。

2.1.4 测定结果的比较: 结果见表 1。可见生地中的水苏糖的量相对较高; 熟地中的甘露三糖的量相对较高; 二者中棉子糖的量也有较显著的差异, 生地中含 35.1 mg/g, 熟地中含 14.4 mg/g; 二者中蔗糖和棣

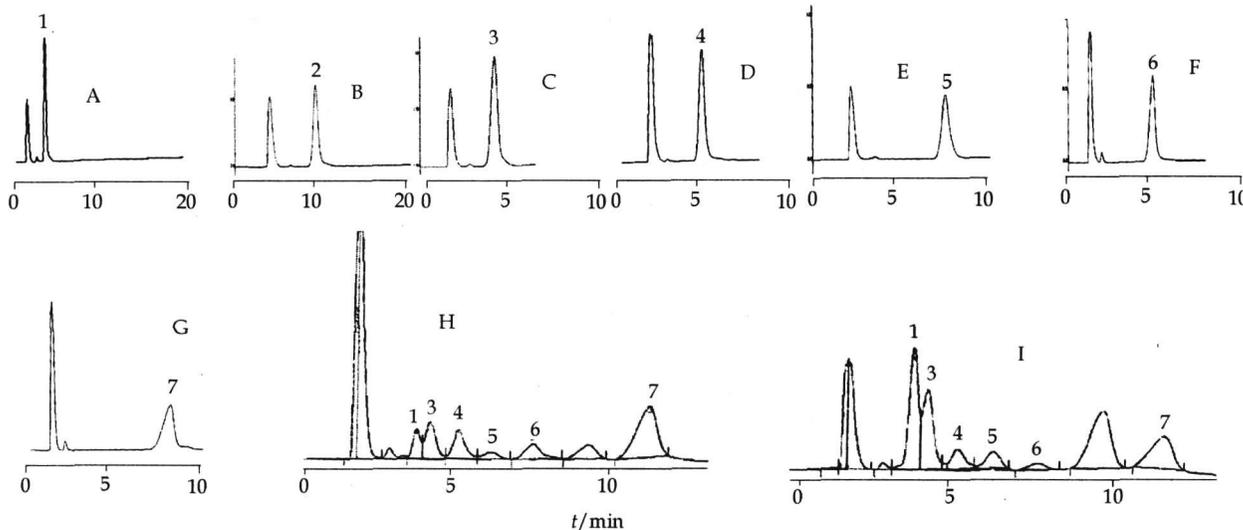
* 收稿日期: 2009-11-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772773); 甘肃省自然科学基金资助项目(3ZS051-A25-078)

* 通讯作者 贾正平 Tel: (0931) 8994652 E-mail: Jiazp166@sina.com

二糖的量没有显著性差异; 由于果糖是酮基六碳糖、葡萄糖和半乳糖是醛基六碳糖, 结构相近, 色谱柱难

以分离开, 没法测定, 但是从生地和熟地水提取物的色谱图可以看出熟地中的果糖的量高于生地。



A-果糖 B-葡萄糖 G-半乳糖 D-蔗糖 E-椴二糖 F-棉子糖 G-水苏糖 H-生地水提取物 I-熟地水提取物
A-fructopyranose B-glucose G-galactose D-sucrose E-melibiose F-gossypose G-uptose
H-dried rehmannia root I-Rehmanniae Radix Praeparata water extract

图 1 不同对照品和提取物 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of different reference substances and extracts

表 1 地黄中各糖的比较 (n=3)

Table 1 Comparison of sugars in *Rehmanniae Radix* (n=3)

样品	质量分数/(mg · g ⁻¹)				
	蔗糖峰	椴二糖	棉子糖	甘露三糖	水苏糖
生地(怀庆)	38.0	17.9	35.1	21.0	166.3
熟地(怀庆)	27.8	26.0	14.4	119.7	72.1
生地(新乡)			74.9		375.6
熟地(新乡)			7.6	119.1	36.9
生地(西峡)			89.6		458.3
熟地(西峡)	4.1			172.3	6.1

2.2 梓醇的 HPLC 法检测^[1]

2.2.1 色谱条件: Waters996 紫外检测器, Waters600 泵, C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测波长为 210 nm, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液(1:99), 体积流量 1.0 mL/min, 柱温为室温, 进样量 20 μL。色谱图见图 2。

2.2.2 对照品溶液的制备: 称取梓醇对照品适量, 精密称定, 用流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(1:99) 制成 10 μg/mL 的溶液, 0.45 μm 滤过, 得到滤液, 备用。

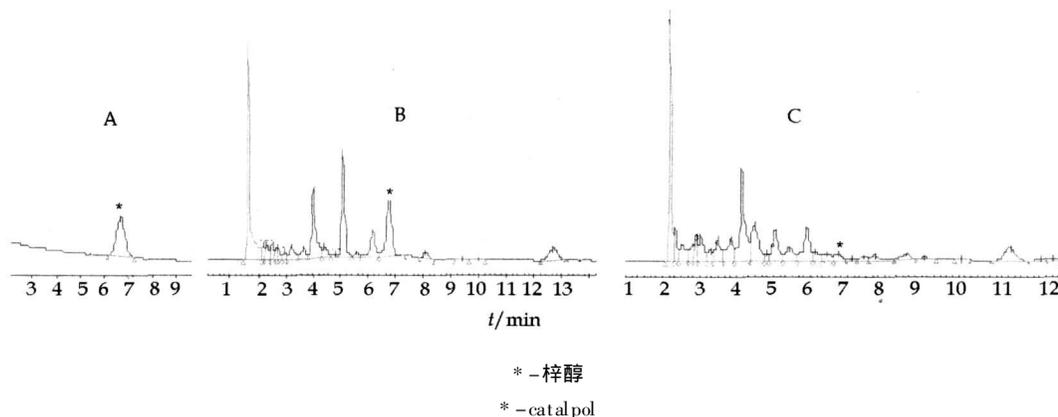


图 2 梓醇对照品(A)、生地甲醇提取物(B)及熟地甲醇提取物(C)HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC Chromatograms of catalpol reference substance (A) and methanol extracts from *Rehmanniae Radix* (B) and *Rehmanniae Radix Praeparata* (C)

2.2.3 供试品溶液的制备: 分别称取生地、熟地 0.5 g, 精密称定, 加甲醇 5 mL, 超声提取 30 min, 放

冷, 用甲醇定容至 5 mL, 滤过, 水浴蒸干, 残渣用流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(1:99) 溶解定容至 5

mL, 0.45 μm 滤过, 得到滤液, 备用。

2.2.4 测定结果的比较: 结果见表2。可见生地中的梓醇的量相对较高, 每克药材含有2.04 mg, 熟地每克药材含有0.322 mg。

表2 生地、熟地甲醇提取物中梓醇的比较(n=3)

Table 2 Comparison of catalpol in methanol extracts from *Rehmanniae Radix* and *Rehmanniae Radix Praeparata* (n=3)

样品	梓醇/(mg·g ⁻¹)
生地	2.04
熟地	0.32

3 讨论

生地和熟地的糖类成分色谱图中, 成分基本一致, 量有所变化, 二者都含有果糖、葡萄糖、半乳糖3种单糖, 蔗糖、棣二糖两种二糖, 棉子糖、甘露三糖两种三糖, 水苏糖一种四糖; 生地炮制成熟地后水苏糖主要失去一个酮基单糖果糖, 生成甘露三糖, 所以熟地中甘露三糖和果糖的量较生地高; 葡萄糖和半乳糖都是醛基六碳糖, 保留时间分别为4.387、4.443 min, 二者很难分开。文献报道, 地黄中的寡糖含有少量的毛蕊四糖和毛蕊糖(五糖)^[6,7], 但是在本研究检测条件下没有检测到。

生地甲醇提取物及熟地甲醇提取物的HPLC色谱图显示, 成分、量差别较大, 其中生地明梓醇的量高于熟地。梓醇是一种环烯醚萜葡萄糖苷类化合物, 加工炮制过程中, 脱去糖基而发生了一系列化学变化, 导致梓醇大幅降低的同时出现了新的化合物。

生地和熟地的糖类成分色谱图与梓醇色谱图显示, 糖类成分的量高, 生地中水苏糖量最高, 达到166.3 mg/g, 棣二糖最低达到21.0 mg/g, 熟地中甘露三糖最高达到119.7 mg/g, 棉子糖最低达到14.4

mg/g, 梓醇的量相比较较低, 生地2.04 mg/g, 熟地0.32 mg/g。

生地炮制成熟地, 无论糖类成分还是环烯醚萜苷类成分均有不同程度地变化。其对地黄的药效变化有何作用等问题, 有待进一步深入研究。

对供试品溶液的计算, 采用工作曲线回归方程法和外标一点法两种方法^[8]。工作曲线回归方程法计算供试品中水苏糖的量和加样回收率的RSD分别为1.04%、3.51%; 用外标一点法计算供试品中水苏糖的量和加样回收率的RSD分别为0.93%、2.94%。用外标一点法计算的误差比用工作曲线回归方程法的误差小, 所以建试验中地黄寡糖的测定采用外标一点法计算, 既可以减少对照品的浪费, 又可以降低计算带来的误差。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部, 2005
- [2] 张汝学, 贾正平, 李茂星, 等. 地黄寡糖改善 HepG2 细胞胰岛素抵抗的分子机制研究[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1184-1187
- [3] 阴健, 郭力弓. 中药现代研究与临床应用(1)[M]. 北京: 学苑出版社, 1993
- [4] 张汝学, 樊俊杰, 贾正平, 等. 地黄中寡糖的提取分离工艺研究[J]. 解放军药学学报, 2005, 21(1): 34-36
- [5] 刘有平, 张佳蕊, 邵华, 等. 柱前衍生化 RP-HPLC 法测定地黄中葡萄糖、半乳糖和蜜二糖[J]. 中草药, 2009, 40(6): 974-976
- [6] Tomoda M, Kato S, Onuma M, et al. Water-soluble constituents of *Rehmanniae Radix*. I. Carbohydrates and acids of *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1971, 19(7): 1455-1460
- [7] Kubo M, Asano T, Matsuda H, et al. Studies on *Rehmanniae Radix*. III. The relation between changes of constituents and improvable effects on hemorheology with the processing of roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1996, 116(2): 158-168
- [8] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. 地黄中寡糖含量的 HPLC 法测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 8-9

薄层色谱法鉴定莪术油中倍半萜类成分的研究

崔友¹, 孙秀燕^{2*}, 张慧²

(1 浙江天瑞药业有限公司, 浙江 瑞安 325200; 2 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005)

摘要: 目的 建立莪术油中= 牛儿酮、呋喃二烯、莪术二酮和莪术烯 4种倍半萜类成分的鉴别方法。方法 采用薄层色谱法, 硅胶薄层板, 正己烷-醋酸丁酯(98:2)为展开剂, 香草醛硫酸试液显色。结果 = 牛儿酮、呋喃二烯、莪术二酮和莪术烯的 R_f 值分别为 0.11、0.31、0.50、0.60。结论 方法操作简便、准确、重现性好, 可用于同时鉴别莪术油中有效成分= 牛儿酮、呋喃二烯和莪术二酮。

* 收稿日期: 2009-06-12

基金项目: 山东省教育厅科技计划项目(J07W01)

作者简介: 崔友(1966-), 男, 黑龙江省宝清县人, 副主任药师, 主要从事新药研发及其药物制剂工艺与质量标准研究。

* 通讯作者 孙秀燕 Tel: (0535) 6706023 Fax: (0535) 6706036 E-mail: sunxy@ytu.edu.cn