

3 个品种黄精炮制前后小分子糖含量变化

曾林燕¹, 魏征^{1,2}, 曹玉娜^{1,2}, 张琳琳¹, 宋志前¹, 刘春生³, 刘振丽^{1*}

(1. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700; 2. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193;
3. 北京中医药大学药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的:研究多花黄精、黄精和滇黄精炮制前后小分子糖组成及含量变化。方法:3 个品种黄精采用酒蒸制不同时间;HPLC-ELSD 法检测小分子糖种类及含量,色谱柱为 BIO-RAD Aminex HPX-87C(7.8 mm×300 mm,9 μm),流动相水,流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 78 ℃,蒸发光散射检测器温度为 105 ℃,载气流量 2.5 mL·min⁻¹。结果:3 个品种黄精生品中检测到的小分子糖都为蔗糖和果糖,酒蒸 8 h 或 16 h 后,分别又检测到葡萄糖;3 种糖含量随炮制时间的延长而增加,然后在不同时间点又呈降低趋势;2 种还原糖葡萄糖和果糖之和、以及小分子糖总量都在炮制 16 h 达到最高,为生品的 4~27 倍。结论:3 个品种黄精中小分子糖的组成和含量随炮制时间发生变化。

[关键词] 黄精; 高效液相色谱法; 炮制; 小分子糖; 含量
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)11-0069-04
[DOI] CNKI:11-3495/R.20120327.2700.016 [网络出版时间] 2012-03-27 17:06
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120327.1706.016.html>

Content Variations of Low Molecular Weight Saccharide from
Rhizoma Polygonation during Processing

ZENG Lin-yan¹, WEI Zheng^{1,2}, CAO Yu-na^{1,2}, ZHANG Lin-lin¹, SONG Zhi-qian¹,
LIU Chun-sheng³, LIU Zhen-li^{1*}

(1. The Institute of Chinese Medicine Basic Theory, China Academy of Chinese Medical Sciences,
Beijing 100700, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine,
Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;
3. School of Chinese Pharmacy Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] Objective: To study the changes of low molecular weight saccharide in Rhizoma Polygonation during processing. Method: HPLC analysis was performed on a BIO-RAD Aminex HPX-87C column (7.8 mm × 300 mm, 9 μm), and the mobile phase was water. The flow rate was 0.4 mL · min⁻¹ and the temperature of the ELSD was 105 ℃. Result: Sucrose and fructose were detected in the three species of Rhizoma Polygonation raw products but not glucose, and which was detected after processed to 8 h or 16 h on the species; the total contents of reducing sugar and low molecular weight saccharide were the highest when processed to 16 h which were 4-27 times higher than those of the raw products. Conclusion: The composition and the contents of low molecular weight saccharide in three species of Rhizoma Polygonation varied during processing.

[Key words] Rhizoma Polygonation; HPLC; processing; low molecular weight saccharide; content

[收稿日期] 20121206(149)
[基金项目] 国家自然科学基金面上课题(81073050)
[第一作者] 曾林燕, 硕士研究生, 从事中药分析研究, E-mail:
linyanz-2009 @ 163. com
[通讯作者] * 刘振丽, 研究员, 从事中药质量标准研究, Tel:
010-64014411-2503, E-mail: zhenli _ liu @ sina.
com. cn

黄精为百合科植物滇黄精、黄精或多花黄精的干燥根茎。具有补气养阴、健脾、润肺、益肾的功效^[1], 主要含有多糖、低聚糖、皂苷、氨基酸的等成分^[2]。《中国药典》以多糖作为黄精生品及其炮制品酒黄精含量测定的指标成分^[1], 炮制后其中的多糖含量降低^[3]。药理实验结果显示, 黄精炮制后其

中的小分子糖类具有提高机体免疫功能的作用^[4]，而炮制前后小分子糖的组成以及含量变化未见报道。本文采用 HPLC-ELSD 法，对《中国药典》收载的 3 个品种黄精炮制前后小分子糖的种类和含量进行了研究，为深入研究黄精炮制过程中内在成分的变化以及评价黄精生品及炮制品的质量提供参考。

1 仪器与试药

HP1100 型高效液相色谱仪 (G1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 恒温箱, HP 化学工作站), Alltech2000 蒸发光散射检测器, TCQ-250 型超声波清洗器 (北京医疗设备二厂), Sartorius CP 225D 电子天平, D-101 大孔吸附树脂 (天津农药厂)。

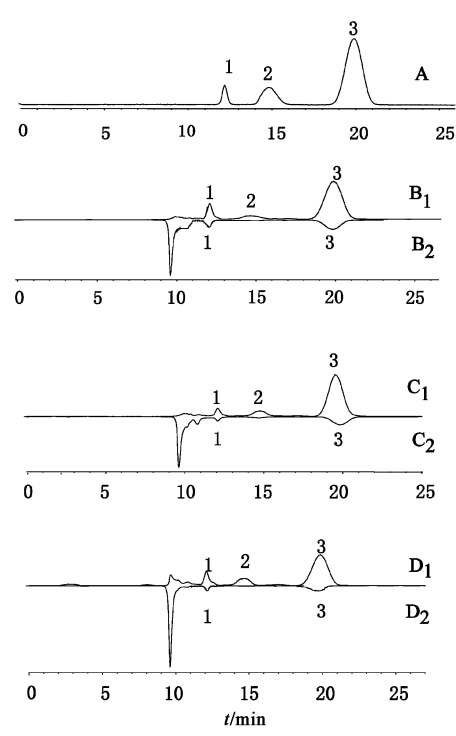
3 个品种的黄精鲜品均采自贵州省黔西南布依族苗族自治州兴仁县, 经北京中医药大学中药学院刘春生教授鉴定, 分别为百合科植物滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.、黄精 *P. sibiricum* Red. 和多花黄精 *P. cyrtoneura* Hua. 的根茎。黄精生品及不同炮制时间的酒黄精样品, 为实验室依照 2010 年版《中国药典》方法制备。*D*-无水葡萄糖 (批号 110833-200904)、*D*-果糖 (批号 111504-200001)、蔗糖 (批号 111507-200001) 对照品均为含量测定用, 购自中国药品生物制品检定所。水 (娃哈哈纯净水), 绍兴黄酒 (绍兴县第三酒厂), 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 BIO-RAD Aminex HPX-87C (7.8 mm × 300 mm, 9 μm) 色谱柱, 流动相为水, 流速 0.4 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 柱温 78 ℃。ELSD 检测器温度为 105 ℃, 载气流量 2.5 mL·min⁻¹, 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取蔗糖、*D*-无水葡萄糖、*D*-果糖对照品, 加水分别制成每 1 mL 含 1.542, 5.07, 5.10 mg 的溶液。分别精密吸取不同体积的各对照品溶液, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以测得的峰面积积分值的自然对数 (*Y*) 为纵坐标, 进样量的自然对数 (*X*) 为横坐标 (μg), 绘制标准曲线, 计算回归方程, $Y_{\text{蔗糖}} = 1.1505X + 1.6368 (r = 0.9998)$, 表明蔗糖在 2.04 ~ 3.65 μg 具有良好的线性关系; $Y_{D\text{-葡萄糖}} = 1.1812X + 1.1084 (r = 0.9997)$, 表明 *D*-葡萄糖在 3.23 ~ 4.84 μg 具有良好的线性关系; $Y_{D\text{-果糖}} = 1.143X + 1.1677 (r = 0.9998)$, 表明 *D*-果糖在 3.93 ~ 5.54 μg 具有良好的线性关系。

2.3 供试品溶液的制备 取各供试品粉末 (过四



A. 对照品; B₁. 酒制多花黄精 (16 h); B₂. 多花黄精生品;
C₁. 酒制黄精 (16 h); C₂. 黄精生品; D₁. 酒制滇黄精 (16 h);
D₂. 滇黄精生品; 1. 蔗糖; 2. 葡萄糖; 3. 果糖

图 1 3 个品种黄精生品、酒制品的 HPLC 图谱

号筛) 0.5 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加入 80% 乙醇 100 mL, 85 ℃ 回流提取 4 h, 趁热滤过, 滤渣用 80% 热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 mL, 合并提取液和洗脱液, 60 ℃ 以下减压收干, 残渣加水 5 mL 使溶解, 摇匀, 过 D101 大孔吸附树脂柱 (内径为 1.5 cm, 柱高为 15 cm), 以水 50 mL 洗脱, 收集洗脱液, 转移至 50 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 精密吸取 10 mL 减压收干, 残渣加水 2 mL 使溶解, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 精密度试验 精密吸取同一炮制 16 h 的多花黄精样品溶液重复进样 5 次, *D*-无水葡萄糖峰面积积分值自然对数的 RSD 2.1%; *D*-果糖峰面积积分值自然对数的 RSD 0.9%; 蔗糖峰面积积分值自然对数的 RSD 3.0%。

2.5 稳定性试验 取炮制 16 h 的多花黄精样品溶液, 分别在制备后 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样测定一次, *D*-无水葡萄糖峰面积积分值自然对数的 RSD 1.2%; *D*-果糖峰面积积分值自然对数的 RSD 1.1%; 蔗糖峰面积积分值自然对数的 RSD 1.7%。表明样品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验 精密称取同一炮制 16 h 的多花黄精样品 5 份, 按供试品溶液制备方法处理, 进行含

量测定。*D*-无水葡萄糖含量的 RSD 1.9% ;*D*-果糖含量的 RSD 2.0% ,蔗糖含量的 RSD 1.3% 。

2.7 回收率试验 取已知含量的炮制 16 h 的多花黄精粉末 0.25 g 6 份,精密称定,分别精密加入 *D*-无水葡萄糖、*D*-果糖和蔗糖对照品,按供试品溶液处理,进行含量测定,计算 *D*-无水葡萄糖回收率为 98.7% ,RSD 2.3% ;*D*-果糖回收率为 100.1% ,RSD 2.9% ;蔗糖回收率为 98.7% ,RSD 2.2% 。结果见表 1~3。

表 1 *D*-葡萄糖回收率试验

取样量 /g	样品中 含量 /mg	添加量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.241	1.664	1.65	3.301	99.3	98.7	2.3
0.253	1.748	1.65	3.326	95.6		
0.258	1.777	1.65	3.399	98.3		
0.250	1.727	1.65	3.458	104.9		
0.257	1.770	1.65	3.395	98.5		
0.252	1.738	1.65	3.315	95.6		

表 2 *D*-果糖回收率试验

取样量 /g	样品中 含量 /mg	添加量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.241	18.57	19.50	38.75	103.5	100.1	2.9
0.253	19.50	19.50	38.23	96.0		
0.258	19.83	19.50	38.47	95.6		
0.250	19.28	19.50	39.12	101.8		
0.257	19.75	19.50	39.25	100.0		
0.252	19.39	19.50	39.66	103.9		

表 4 3个品种黄精生品及不同炮制时间酒黄精中小分子糖含量测定

品种	炮制时间	蔗糖		葡萄糖		果糖		总还原糖	总小分子糖
		含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD	含量(倍数)	含量(倍数)
多花	生品	0.06	1.9	—	—	2.01	1.5	2.01	2.07
黄精	酒制 4 h	0.40	3.6	—	—	3.80	2.5	3.80(1.9)	4.20(2.0)
	酒制 8 h	0.56	2.4	—	—	4.95	3.0	4.95(2.5)	5.51(2.7)
	酒制 16 h	0.52	0.1	0.69	2.8	7.70	0.9	8.39(4.2)	8.92(4.3)
	酒制 24 h	0.50	1.4	0.72	1.3	6.97	2.1	7.69(3.8)	8.18(4.0)
	酒制 32 h	0.46	2.5	0.68	2.6	6.56	2.6	7.24(3.6)	7.70(3.7)
黄精	生品	0.19	4.9	—	—	1.76	2.9	1.76	1.95
	酒制 8 h	0.56	3.3	0.52	2.4	5.89	0.3	6.41(3.6)	6.96(3.7)
	酒制 16 h	0.45	1.8	0.83	3.2	6.61	2.9	7.44(4.2)	7.83(4.0)
	酒制 24 h	0.41	2.5	0.81	1.9	6.30	3.7	7.11(4.0)	7.52(3.9)
滇黄精	生品	0.06	2.9	—	—	0.31	4.6	0.31	0.39
	酒制 16 h	1.01	1.60	0.59	0.8	7.80	3.5	8.39(27.1)	9.40(24.1)

注:“—”表示未检测到,倍数=酒制品含量/生品含量。

表 3 蔗糖回收率试验

取样量 /g	样品中 含量 /mg	添加量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.241	1.085	1.10	2.197	101.1	98.7	2.2
0.253	1.140	1.10	2.215	97.7		
0.258	1.159	1.10	2.210	95.6		
0.250	1.126	1.10	2.240	101.2		
0.257	1.154	1.10	2.215	96.4		
0.252	1.133	1.10	2.237	100.3		

2.8 含量测定 精密吸取对照品溶液 10,20 μL,各供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,计算样品中含量,结果见表 4。

3 讨论

HPLC-ELSD 图谱显示(图 1),从贵州采集的 3 个品种黄精生品中,小分子糖都为蔗糖和果糖。经炮制后,黄精、多花黄精和滇黄精分别在 8,16,16 h 炮制品中检测到了葡萄糖。采用薄层色谱检视,从黄精及其炮制品中确认的小分子糖为葡萄糖、果糖和蔗糖^[5];黄精多糖由半乳糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖和葡萄糖组成^[6]。试验中曾对上述小分子糖和组成多糖的单糖进行了检测,在供试品图谱中没有检测到葡萄糖、果糖和蔗糖外的其他糖。保留时间 10 min 左右,3 个品种的黄精生品都出现一组较大的吸收峰,而相应的酒制品中没有或峰面积

野菊不同部位绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量测定

何小珍¹,郭玉¹,徐小娜²,彭翔¹,刘刚¹,喻翠云^{1*}

(1. 南华大学 药学系,湖南 衡阳 421001;2. 南华大学 卫生检验系,湖南 衡阳 421001)

〔摘要〕 目的:检测湖南衡阳产野菊不同部位(叶、花、花蕾、嫩茎及老茎)中绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量。方法:以 80% 的乙醇为溶剂,用超声法提取野菊不同部位中的绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸。采用高效液相色谱法检测绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量,以 0.05% 磷酸水溶液-乙腈为流动相,梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 327 nm。结果:绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的质量浓度在 10~100 mg·L⁻¹($r=0.996$, $r=0.992$)与峰面积呈良好的线性关系($n=5$),平均回收率($n=6$)分别为 98.5%,99.7%。野菊叶、花、花蕾、嫩茎及老茎中绿原酸的含量分别为 1.08%,0.44%,0.39%,0.58%及 0.52%;3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量分别为 1.66%,1.01%,0.82%,0.93%,0.64%,其中野菊叶中绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸的含量最高。结论:野菊不同部位均含有绿原酸和 3,5-二咖啡酰奎尼酸,但它们的含量存在明显差异。

〔关键词〕 野菊;绿原酸;3,5-二咖啡酰奎尼酸;高效液相色谱

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)11-0072-04

〔DOI〕 CNKI:11-3495/R.20120327.2700.007 〔网络出版时间〕 2012-03-27 14:47

〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120327.1447.007.html>

〔收稿日期〕 20120111(007)

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(81102409);湖南省教育厅项目(10C1179)

〔第一作者〕 何小珍,硕士,实验师,从事药物分析研究,Tel:0734-8281753,E-mail:hexiaozhen988@yahoo.cn

〔通讯作者〕 * 喻翠云,博士,副教授,从事药剂学研究,Tel:0734-8281753,E-mail:zyzd_111@yahoo.com.cn

降低(图 1),究竟是何种成分变化,值得进一步研究。由于产地不同,化学成分的组成可能存在差异。因此,对于其他产地黄精中糖的组成还需研究才能确定。

为研究各种小分子糖随炮制时间的变化,制备了 2 个品种即多花黄精和黄精不同炮制时间的酒制饮片。结果显示(表 4),蔗糖含量随炮制时间的延长呈现相同的升高趋势,8 h 时达到最高,然后逐渐下降;*D*-果糖的含量也随着炮制时间的延长增加,16 h 时达到最高,随后呈下降趋势;*D*-葡萄糖在黄精、多花黄精和滇黄精的 8,16,16 h 酒制品中分别检测到;比较 2 种还原糖葡萄糖与果糖的总量以及 3 种小分子糖的总量,在多花黄精和黄精不同炮制时间饮片 中都是 16 h 最高,是生品的 4 倍以上;滇黄精炮制 16 h 后,总还原糖与总小分子糖含量为生品的 24 倍以上,差异非常显著。有报道黄精酒炖 25 h 还原糖含量最高^[7],与本研究结果有一定差异。

〔参考文献〕

[1] 中国药典.一部[S].2010;288.
[2] 钟凌云,周烨,龚千锋.炮制对黄精薯蓣皂苷元影响的研究[J].中华中医药学刊,2009,27(3):538.
[3] 喻雄华,张大舜.不同方法炮制的黄精中多糖含量的比较[J].中国医院药学杂志,2006,26(10):1306.
[4] 杨云,王爽,冯云霞,等.黄精中小分子糖对小鼠免疫功能的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(18):3447.
[5] 冯云霞.炮制加工对黄精化学成分的影响及其饮片质量研究[D].郑州:河南中医学院,2008.
[6] 刘柳,郑芸,董群,等.黄精多糖的组分及其免疫活性[J].中草药,2006,37(8):1132.
[7] 杨云,万焱,许小华,等.黄精中还原糖含量与饮片加工方法和时间的相关性研究[J].中药材,2008,31(11):1631.

〔责任编辑 蔡仲德〕