

• 质量标准 •

# 益智不同药用部位成分的比较研究

吴德玲<sup>1,2\*</sup>, 金传山<sup>1,2</sup>, 寇婉青<sup>1</sup>, 许凤清<sup>1</sup>, 周 燕<sup>1</sup>

(1. 安徽中医学院药学院, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽省高校现代中药重点实验室, 安徽 合肥 230031)

**[摘要]** 目的: 通过对益智的不同药用部位的成分进行对比研究, 为探讨其去壳使用的炮制原理提供依据。方法: 利用重量法测定浸出物含量; 用紫外分光光度法测定益智仁中总黄酮和多糖的含量, 利用 IR 和 HPLC 对其成分进行对比研究。结果: 益智不同药用部位浸出物含量有所差别; 挥发油含量仁高于壳; 黄酮含量仁高于壳; 多糖含量仁高于壳; IR 和 HPLC 图谱表明益智仁和益智壳成份有差异。结论: 益智不同药用部位的化学成份有较大的差别, 应去壳后使用。

**[关键词]** 益智; 药用部位; 成分; 比较

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)04-0001-03

益智为姜科属植物益智(*Alpinia Oxyphylla*)的干燥成熟果实, 用于肾气不足、不能固摄所致的腹痛、食少等症<sup>[1]</sup>。益智在临床上有去壳和带壳两种使用方法, 我们通过对益智不同药用部位间的挥发油含量、浸出物、总黄酮、多糖含量及 IR 和 HPLC 图谱进行比较研究, 为其炮制和临床使用提供依据, 现报道如下:

## 1 实验材料

海南产益智经安徽中医学院生药教研室周建理教授鉴定为 *Alpinia Oxyphylla* 的果实。乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯; 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110807-200305)。

757-CRT 型紫外可见分光光度计(上海棱光仪器有限公司); AG-285 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); Nicolet Avatar370 DTGS 红外光谱仪; 高效液相色谱仪: SHIMADAZHU LC-20AB 输液泵(日本岛津公司)、SHIMADAZHU SPD-M20A PDA Dectector(日本岛津公司); AS-5150A 超声清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);

## 2 方法与结果

**2.1 益智仁和益智壳中挥发油含量比较** 按照《中国药典》项下进行测定<sup>[1]</sup>, 结果见表 1。

**2.2 益智仁和益智壳中浸出物含量测定** 按照《中

国药典》项下的热浸法测定<sup>[1]</sup>。结果见表 1。

表 1 益智不同部位挥发油、浸出物含量比较

样品	挥发油含量(mL/100 g)	挥发油颜色	水浸物(%)	醇浸物(%)
益智仁	1.21	浅黄色	23.25	11.62
益智壳	0.45	浅绿色	25.69	13.18

## 2.3 益智仁和益智壳中总黄酮含量测定

**2.3.1 样品液制备** 取过 30 目筛的益智仁和益智壳粉末 2 g, 精密称定, 置 250 mL 圆底烧瓶中, 加 30 mL 石油醚(60~90 °C)脱脂 1 h, 滤过, 滤渣中加入 25 mL 石油醚(60~90 °C)脱脂 0.5 h, 滤过, 滤渣中加入 50 mL 80% 乙醇回流 2 h, 滤过, 滤渣中再加入 40 mL 80% 乙醇回流 1 h, 滤过, 滤渣 80% 乙醇 30 mL 淋洗, 合并提取液, 回收乙醇, 蒸干, 再用 80% 乙醇溶解, 转移至 100 mL 容量瓶中, 以 80% 乙醇定容, 即得<sup>[2]</sup>。

**2.3.2 标准液制备** 精密称取于 105 °C 下干燥至恒重的芦丁标准品 19.20 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 加 80% 乙醇溶解, 定容至 100 mL, 即得。

**2.3.3 吸收波长的选择** 精密移取益智仁样品溶液和壳样品溶液各 3.0 mL, 对照品溶液 4.0 mL, 分别置 3 个 25 mL 量瓶中, 分别加入 50% NaNO<sub>2</sub> 和 10% AlCl<sub>3</sub> 各 1.0 mL, 静置 6 min。再加入 100% NaOH 10.0 mL, 加水至刻度摇匀后放置 5 min。同法用 80% 的乙醇作空白, 在 400~600 nm 范围内进行扫描, 结果表明样品和对照品溶液的最大吸收波长均为 510 nm, 因此选取 510 nm 为检测波长。

**2.3.4 标准曲线制备** 精密移取芦丁标准液 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 同前显色, 在 510 nm 下测定各溶液的吸收度, 以黄酮

[收稿日期] 2006-08-03

[基金项目] 国家十五攻关课题(2001BA701A55-2)

[通讯作者] \* 吴德玲, Tel: (0551) 5169239; E-mail: dlwu7375@sina.com

浓度为横坐标, 吸收度为纵坐标, 进行线性回归, 结果表明在 19.2~ 38.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度范围内, 吸收度与浓度呈良好的线性关系, 回归方程为  $A = 0.1002C - 0.0754$ , 相关系数  $r = 0.9995$ 。

**2.3.5 稳定性考察** 按“标准曲线制备”项下操作, 益智仁样品液显色 5 min 后记时, 每隔 10 min 测定一次, 考察其显色后 1 h 内的稳定性。结果  $\text{RSD} = 1.16\%$ , 表明在 1 h 内样品基本稳定。

**2.3.6 精密度试验** 取同一样品液共 6 份, 每份 3 mL 置 25 mL 量瓶中, 按“标准曲线制备”项下显色、测定, 试验结果  $\text{RSD} = 1.16\%$ , 表明该方法测定益智黄酮含量的精密度良好。

**2.3.7 重复性试验** 取同一益智仁样品各 5 份, 每份 2 g, 按“样品制备”项下操作, 每份样液各取 3 mL 置 25 mL 量瓶中, 按“标准曲线制备”项下显色、测定, 结果  $\text{RSD} = 1.52\%$ , 表明该方法测定益智黄酮含量的重复性良好。

**2.3.8 回收率试验** 取已知含量的同一批益智仁样品适量, 精密称定, 分别精密加入芦丁对照品溶液, 按供试样品液制备方法制备, 按“标准曲线制备”项下显色、测定, 结果见表 2。

表 2 益智仁总黄酮回收率试验结果

样品黄酮含量 (mg)	芦丁加量 (mg)	测定结果 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
0.1325	0.1260	0.2591	100.48	1.16
0.1239	0.1260	0.2479	98.41	
0.1218	0.1260	0.2468	99.21	
0.1306	0.1260	0.2582	101.27	
0.1198	0.1260	0.2446	99.05	
0.1279	0.1260	0.2551	100.95	

结果表明, 该方法测定黄酮含量准确度良好。

**2.3.9 样品的含量测定** 取益智仁和益智壳样品约 2 g, 精密称定。按 2.4.1 项下操作; 按 2.4.4 项下显色、测定。测定结果见表 4。

**2.4 益智仁和益智壳中多糖含量测定**

**2.4.1 样品液制备** 取样品粉末 0.5 g, 精密称重, 置于圆底烧瓶中, 加 30 mL 80% 乙醇回流提取 1 h, 滤过后加 25 mL 80% 乙醇回流提取 0.5 h, 滤过, 滤渣分别加蒸馏水回流提取 1.5 h, 滤过后药渣再加 30 mL 蒸馏水回流提取 1.0 h 稍放冷后, 滤过, 以蒸馏水 20 mL 淋洗 3~ 4 次, 淋洗液并入 100 mL 容量瓶中, 蒸馏水定容即得<sup>[3]</sup>。

**2.4.2 对照品液制备** 精密称取于 105  $^{\circ}\text{C}$  下干燥至恒重的葡萄糖对照品 11.50 mg, 置 100 mL 容量瓶

中, 加水溶解, 定容, 摇匀即得。

**2.4.3 吸收波长的选择** 分别精密移取 2.4.1 项下益智仁和益智壳的多糖样液及葡萄糖对照液各 0.3 mL 于 10 mL 量瓶中, 加蒸馏水至 1.0 mL, 加 5% 苯酚溶液 2.0 mL, 摇匀, 迅速加入浓硫酸 7.0 mL, 立即摇匀, 放置 10 min, 沸水浴加热 20 min, 于阴暗处放至室温。同法用蒸馏水做空白。在 400~ 600 nm 范围内进行扫描, 结果表明, 样品和对照品的最大吸收波长均为 488 nm, 因此选取 488 nm 为检测波长。

**2.4.4 标准曲线制备** 分别精密移取标准对照液 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 mL 于 6 个 10 mL 量瓶中, 再依次加入 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 mL 蒸馏水, 同前法操作, 于 488 nm 下测定各溶液的吸收度, 以多糖浓度为横坐标, 吸收度为纵坐标, 进行线性回归, 回归方程为  $A = 0.966C - 0.0342$ , 相关系数  $r = 0.9996$ , 结果表明在 3.45~ 10.35  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度范围内, 吸收度与浓度呈良好的线性关系。

**2.4.5 稳定性考察** 按 2.4.4 项下操作, 益智仁样品液显色 5 min 后记时, 每隔 10 min 测定一次, 考察其显色后 1 h 内的稳定性。结果  $\text{RSD} = 0.79\%$ , 表明在 1 h 内样品基本稳定。

**2.4.6 精密度试验** 移取同一样品液, 每份 0.3 mL 置 25 mL 量瓶中, 按 2.3.4 项下显色。结果  $\text{RSD} = 1.29\%$ , 表明该方法测定益智多糖含量的精密度良好。

**2.4.7 重复性试验** 取同一样品各 6 份, 每份约 0.5 g, 按 2.4.1 项下操作, 每份样液各取 0.2 mL 置 10 mL 量瓶中, 按 2.4.4 项下显色, 结果  $\text{RSD} = 1.61\%$ , 表明该方法测定益智多糖含量的重复性良好。

**2.4.8 回收率试验** 取已知含量的同一批益智仁样品适量, 精密称定, 分别精密加入葡萄糖对照品溶液, 按供试样品液制备方法制备, 按“标准曲线制备”项下显色, 结果见表 3。

表 3 益智仁多糖回收率试验结果

样品中多 糖量( $\mu\text{g}$ )	加标准品量 (m)	测定值 (m)	回收率 (%)	RSD (%)
0.2182	0.2250	0.4398	98.49	0.75
0.2218	0.2250	0.4476	100.36	
0.2096	0.2250	0.4339	99.69	
0.2325	0.2250	0.4562	99.42	
0.2291	0.2250	0.4521	99.11	
0.2126	0.2250	0.4386	100.44	

试验结果表明该方法测定多糖含量准确度良好。

**2.4.9 样品多糖含量测定** 取益智仁和益智壳样品约0.5 g, 精密称定。按2.4.1项下操作; 每份样液各取0.2 mL置25 mL量瓶中, 按2.4.4项下显色, 同法蒸馏水作空白, 多糖含量测定结果见表4。

表4 样品总黄酮和多糖含量测定结果

样品	黄酮含量(%)	多糖含量(%)
益智仁	1.22	8.25
益智壳	0.95	4.66

### 3 IR 分析鉴别

分别选取同一产地的益智药材, 手工去壳后得到益智仁利益智壳, 将上述样品粉碎后制成过120目筛的细粉, 后以溴化钾压片后进行IR (Nicolet Avatar370 DTGS) 分析<sup>[4]</sup>, 结果见图1。

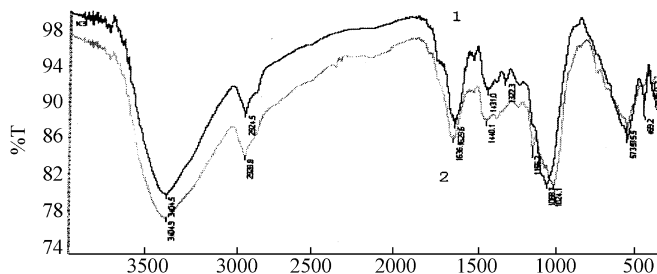


图1 益智仁和益智壳IR合并图  
1. 益智壳样品; 2. 益智仁样品

结果表明: 益智仁和益智壳的IR图有较为明显的区别, 提示其成分间可能有较大的区别。

### 4 甲醇提取液的HPLC比较

分别选取同一产地的益智药材, 手工去壳后得到益智仁、益智壳和益智全果, 上述样品粉碎成粗粉, 取各样品粉末约0.5 g, 精密称定。置于10 mL容量瓶中, 加甲醇7 mL, 浸泡10 h, 超声(250 W)提取30 min后, 加甲醇至刻度, 摇匀后以0.45 μm微孔滤膜滤过; 取内标芍药苷对照品液(1 mg/mL) 0.050 mL置于1 mL容量瓶中, 以样品的续滤液定容后, 精密吸取20 μL注入液相色谱仪, 以230 nm为检波长, 以乙腈-0.05%磷酸水梯度洗脱, 进行分析, 记录色谱图<sup>[5]</sup>, 结果见图2。

试验结果表明, 益智仁和益智壳的成分相差较大, HPLC色谱图中色谱峰差异明显, 益智全果和益智仁的峰形相近, 但各峰的相对峰面积差异较大。

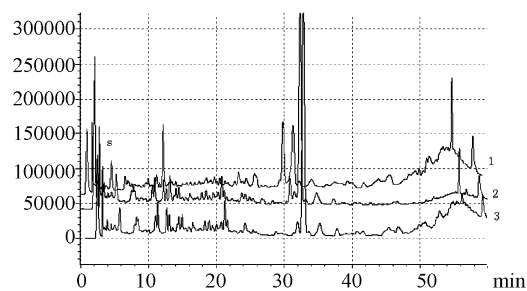


图2 益智不同药用部位的HPLC比较图

1. 益智壳; 2. 益智全果; 3. 益智仁; s. 内标-芍药苷

### 5 结果与讨论

在提取益智仁和壳的挥发油时, 应选用密封新手工剥壳的样品以减少挥发油损失。在测定总黄酮含量中首先用石油醚脱脂2次, 是为了去除脂溶性成分的干扰。同样, 在测定多糖含量样品制备中首先用乙醇提取也是为了去除醇溶性成分干扰。

挥发油含量益智仁高于益智壳, 通过薄层层析试验发现两者的主要斑点基本一致; 益智不同药用部位浸出物含量有所差别, 益智壳中水浸物和醇浸物含量均大于益智仁中, 而总黄酮和多糖的含量则是益智仁大于益智壳; 由IR和HPLC图谱可见两者有较大差异, 益智壳的HPLC色谱图中, 在保留时间30 min和32 min处有两个较大色谱峰, 而益智仁在32 min处色谱峰较大, 而30 min处基本无色谱峰, 当然30 min处的成分是否对人体有害或有其它作用, 尚不清楚, 需要结合药效学实验的进一步研究。

综上所述, 益智仁和益智壳的成分之间有较大的差异, 在未经药效试验验证的基础上, 还应按照传统去壳后再使用。而益智壳是否有其它的药用价值, 还有待于做进一步的研究。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 204, 附录X-56, 附录X-57.
- [2] 吴德玲, 刘金旗, 金传山, 等. 益智仁中总黄酮含量测定[J]. 安徽中医学院学报, 2005, 24(6): 38-39.
- [3] 李俊, 韩向晖, 李仲洪, 等. 茯苓多糖的提取与含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2000, 17(1): 49-50.
- [4] 孙素琴, 周群, 秦竹. 中药二维相关红外光谱鉴定图集[M]. 北京: 化学工业出版社, 1984. 288.
- [5] 谢培山. 中药色谱指纹图谱质量控制模式的研究和应用[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3): 18-23.