

## 龙爪槐角与槐角对照药材中芦丁和槐角苷的比较研究

刘景东, 王志玲, 勾凌燕, 王 憬, 刘惠敏, 王秀卿  
(第四军医大学白求恩军医学院, 河北 石家庄 050081)

**摘要:**目的 探索龙爪槐角替代槐角应用的可行性,为龙爪槐角替代槐角应用提供实验依据。方法 槐角对照药材与冬季采摘于不同地点的龙爪槐角,经甲醇连续提取,260 nm 波长绘制 HPLC 色谱图,对龙爪槐角与槐角对照药材中主要黄酮成分芦丁,主要异黄酮成分槐角苷进行比较研究,并测定其中的芦丁与槐角苷。结果 龙爪槐角与槐角对照药材 HPLC 色谱图峰型一致,芦丁与槐角苷分别为 0.45% 和 4.44%,与槐角对照药材没有明显差异。结论 龙爪槐角具有替代槐角使用的应用前景,龙爪槐角的应用对于缓解目前槐角资源紧张将发挥积极的作用。

**关键词:** 龙爪槐角; 槐角; 芦丁; 槐角苷; HPLC 法

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2011)10-1829-03

槐角 *Sophorae Fructus*, 冬季采摘自槐 *Sophorae L.* 的成熟果实,《神农本草经》列为上品,是我国传统的中药材,也是《中华人民共和国药典》历版收载品种<sup>[1]</sup>。槐角主产于我国北部,华南及西南地区亦产,以河南豫西山区品质最佳。槐树生长缓慢,木材经济价值低,农民从不把槐树作为药用经济树种,广大农村地区槐资源接近枯竭。目前有限的槐资源主要集中在城乡道路两旁。2010年元月后槐角价格节节攀升,从年初至8月价格上涨70%以上且供不应求<sup>[2]</sup>。龙爪槐 *Sophora japonica var. pendula* Loud. 是槐在自然界中受到雷击、动物的啃食、病虫害等外部因素刺激突然变异而形成的新品种<sup>[3]</sup>,北京已有几百年的种植历史。文献[4]对龙爪槐角与槐角对照药材中主要的黄酮苷元槲皮素、山柰酚与染料木素进行的比较研究,初步探索了龙爪槐角替代槐角使用的可行性。本实验参照王志玲等的方法<sup>[5]</sup>,考察了未水解的龙爪槐角主要黄酮苷和异黄酮苷成分,绘制了龙爪槐角与槐角对照药材在260nm HPLC 色谱图,测定了龙爪槐角中的芦丁与槐角苷,进一步为龙爪槐角替代槐角使用提供理论依据,也为开发新的槐资源提供参考。

### 1 仪器与药品

高效液相色谱仪(美国 Waters,1525 高压双泵系统,2487 双波长紫外检测器,Breeze 色谱数据工作站);AG135 电子分析天平( $d=0.01$  mg/0.1 mg,瑞士);索氏提取器(天津玻璃仪器厂)。

龙爪槐角采自石家庄市不同地点(每处选10棵槐树,每树向阳面采摘一枝,去除枝叶后,混匀,常水洗净,80℃烘干备用。采摘日期:2008-12-15)。经本院药学教研室张书峰博士鉴定为龙爪槐的果实。芦丁、槐角苷对照品及槐角对照药材(中国药品生物制品检定所,批号:100080-200606、11695-200501、121214-0101);甲醇和乙腈为色谱纯级,高纯

水由 Millipore 纯水器制备。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil  $C_{18}$  柱(150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇-1%冰醋酸-乙腈(57:38:5  $v/v$ );体积流量 1.0 mL/min;检测波长 260 nm;柱温为室温。

2.2 对照品溶液的制备 准确称取减压干燥至恒质量的芦丁和槐角苷对照品各 10 mg,分别置于 50 mL 量瓶中,甲醇溶解后定容即为标准贮备液。取上述溶液,配成芦丁和槐角苷质量浓度均为 2  $\mu$ g/mL 的混合溶液,作为对照品溶液。

2.3 样品溶液的制备 分别精密称取 0.5 g 干燥恒质量的龙爪槐角及槐角对照药材细粉,滤纸包成小包,置 150 mL 索氏提取器中,加甲醇 90 mL,100℃水浴连续提取 10 h,冷却后用甲醇定容至 100 mL,0.45  $\mu$ m 滤膜过滤,作为样品溶液。

2.4 芦丁和槐角苷保留时间的确定 取芦丁和槐角苷对照品溶液,按 2.1 项条件,进样 10  $\mu$ L,进行色谱分析,计算芦丁与槐角苷的保留时间分别为 12.540、14.881( $n=3$ )。

### 2.5 方法学考察

2.5.1 回归方程的计算及线性关系考察 分别精密吸取贮备液适量,用甲醇配制成芦丁和槐角苷质量浓度分为 0.08、0.1、0.125、0.25、0.50、1.0、1.5、2.0  $\mu$ g/mL 的混合溶液,按 2.1 项下条件进样 10  $\mu$ L,每个质量浓度重复 3 次,记录色谱图。以峰面积( $A$ )与质量浓度( $C$ )进行线性回归,芦丁质量浓度在 0.08 ~ 1.0  $\mu$ g/mL 线性关系良好,  $A = 144 \times 10^2 C + 195$ ,  $r = 0.9996$ ,槐角苷在 0.125 ~ 2.0  $\mu$ g/mL 线性关系良好,  $A = 500 \times 10^2 C + 105$ ,  $r = 0.9999$ 。

2.5.2 仪器精密度考察 取芦丁、槐角苷分别为 0.5、1.0  $\mu$ g/mL 的混合溶液,按 2.1 项中色谱条件,在一天内不同时间分别测定 5 次,计算日内误差;连续 5 d 每天测定 1 次,计算日间误差,芦丁的日内和日间误差 RSD 分别为 0.74% 和

收稿日期:2011-04-18

基金项目:全军“十一五”面上课题(06MB355)

作者简介:刘景东(1957—),男,高级实验师,硕士生导师,研究方向:药物分析研究。Tel:(0311)87977096,E-mail:sandongliujingdong@

163.com

1.23% 槐角苷的日内和日间误差 RSD 分别为 0.75% 和 1.65% 表明仪器精密度良好。

2.5.3 加样回收率试验 取已测定芦丁与槐角苷的龙爪槐角样品粉末(龙爪槐角-1) 6份,每份 0.5 g 精密称定,分别精密加入不同质量的芦丁与槐角苷对照品,按 2.3 项方法制备供试品溶液,按 2.1 项色谱条件进样测定,测定峰面积代入回归方程计算加样平均回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 (n=6)

成分	原有量 /mg	加入量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
芦丁	3.55	2.00	5.24	94.4	95.7	1.2
	3.55	2.00	5.32	95.9		
	3.55	3.00	6.38	97.4		
	3.55	3.00	6.21	94.8		
	3.55	4.00	7.31	96.8		
	3.55	4.00	7.18	95.1		
槐角苷	23.9	20.00	41.75	95.1	96.2	1.1
	23.9	20.00	42.76	97.4		
	23.9	25.00	46.46	95.0		
	23.9	25.00	47.58	97.3		
	23.9	30.00	51.58	95.7		
	23.9	30.00	52.12	96.7		

2.6 龙爪槐角、槐角对照药材 HPLC 色谱图的绘制及芦丁、槐角苷的测定 精密量取样品溶液适量,用甲醇稀释,使其浓度在线性范围内,按 2.1 项中所述条件,进样量为 10 μL 作 HPLC 分析,每个样品重复 3 次,HPLC 色谱图结果见图 1 和图 2。将芦丁和槐角苷峰面积的平均值代入回归方程分别计算,结果见表 2。

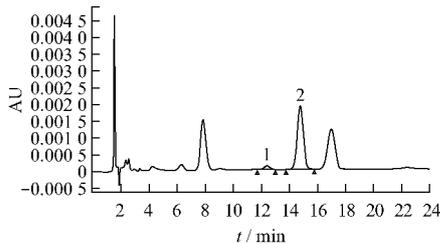


图 1 龙爪槐角样品色谱图  
1. 芦丁 2. 槐角苷

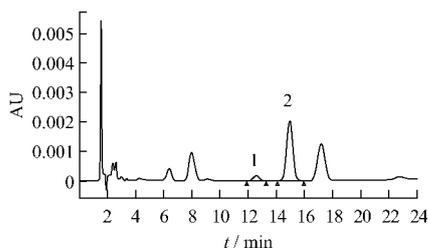


图 2 槐角标准药材样品色谱图  
1. 芦丁 2. 槐角苷

### 3 讨论

3.1 研究证实 槐角中的主要活性成分为黄酮与异黄酮类  
1830

表 2 龙爪槐角与槐角对照药材样品中芦丁与槐角苷的测定结果

样品	购买或采摘地	芦丁 /%	槐角苷 /%
槐角对照药材	中国药品生物制品检定所	0.61	4.50
	军医学院	0.71	4.78
龙爪槐角-1	西兴公园	0.43	4.33
龙爪槐角-2	裕西公园	0.47	4.61
龙爪槐角-3	五十四所	0.31	4.47
龙爪槐角-4	裕华路	0.35	4.03

化合物<sup>[6]</sup>。黄酮类化合物的药理学作用涵盖抗氧化、抗辐射、抗肿瘤、抗炎、抗疲劳和免疫调节等诸多方面<sup>[7-10]</sup>。槐角中的黄酮类化合物多达 27 种<sup>[11]</sup>,种类及含量多于银杏叶<sup>[12]</sup>。异黄酮的量远远高于大豆<sup>[13]</sup>。刘景东等以往的研究结果显示龙爪槐角中主要的黄酮苷元 槲皮素、染料木素和山柰酚分别为其干质量的 0.3%、3.04% 和 2.74%<sup>[4]</sup>。本实验结果显示龙爪槐角中主要的黄酮苷,芦丁与槐角苷的平均质量分数分别为 0.45% 和 4.44%。两者含量均高于银杏叶和大豆。槐角中丰富的黄酮类化合物种类以及多方面的药理学活性极大促进了槐资源的研究、开发和利用,使其具有广阔的应用前景。

3.2 以往的研究结果<sup>[4]</sup>和本实验的研究结果均显示龙爪槐角与槐角对照药材总黄酮提取物水解前后的 HPLC 色谱图峰型基本一致,主要有效成分的量接近,提示两者具有极为相似的黄酮类化合物谱型,有一定的可替代性。此外,龙爪槐多种植于机关大院、大专院校、公园绿地,生态环境好,污染少,植物资源品质优于种植于道路两旁的国槐,且龙爪槐树冠低,极易采摘,资源极为丰富,具有开发利用的价值。本实验为龙爪槐角替代槐角应用提供了实验依据。龙爪槐角如能与槐角通用,将会极大丰富现有槐资源,提高槐角的质量,从根本上解决槐角资源紧张的问题。龙爪槐角能否完全替代槐角还需进一步药理学实验证实。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 334.
- [2] 邢振杰. 槐米减产已成定局,后市蕴藏无限商机[J]. 中国现代中药, 2010, 12(8): 51-52.
- [3] 徐飞,郭卫华,王玉芳,等. 济南市校园 6 个绿化树种光合荧光特征比较初探[J]. 山东大学学报: 理学版, 2007, 42(5): 86-94.
- [4] 刘景东,王志玲,勾凌燕,等. 龙爪槐角与槐角对照药材中主要黄酮苷元成分的对比[J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(9): 990-992.
- [5] 王志玲,刘景东,勾凌燕,等. HPLC 同时测定槐角中的芦丁和槐角苷[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1): 072-074.
- [6] Qi Y, Sun A, Liu R, et al. Isolation and purification of flavonoid and isoflavonoid compounds from the pericarp of *Sophora japonica* L. by adsorption chromatography on 12% cross-linked agarose gel media[J]. *Chromatogr A*, 2007, 1140: 219 - 224.
- [7] 杨帆,刘艾林,杜冠华. 黄酮类化合物对肿瘤多药耐药调节

- 作用的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(2): 109-113.
- [8] 王永红, 龙晓莉, 何菲, 等. 槐角总黄酮对高脂血症大鼠降血脂及抗氧化能力的实验研究[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(22): 2677-2681.
- [9] 储金秀, 李光民, 韩淑英. 荞麦花叶芦丁对糖尿病大鼠早期肝损伤的保护作用[J]. 江苏医药, 2010, 36(8): 935-937.
- [10] 臧宝霞, 金鸣, 吴伟, 等. 山柰酚拮抗血小板活化因子与其受体结合的作用[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(8): 789-791.
- [11] Kite C G, Veitch C N, Boalch E M, et al. Flavonol tetraglycosides from fruits of *Styphnolobium japonicum* (Leguminosae) and the authentication of *Fructus Sophorae* and *Flos Sophorae* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70: 785-794.
- [12] 谢德隆, 高崎, 黄新生, 等. 中国银杏药品质量标准体系的建立及规范的实践[J]. 世界科学技术-中药现代化, 2002, 4(1): 61-62.
- [13] Rostagno M A, Palma M, Barroso C G. Solid-phase extraction of soy isoflavones [J]. *Chromatogr A*, 2005, 1076: 110-117.

## 黄精低聚糖的分离纯化及理化性质研究

王彦志, 董晶晶, 刘富岗, 杨云\*  
(河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008)

**摘要:** 目的 研究黄精低聚糖的分离纯化技术, 并进行理化性质的分析。方法 采用 80% 乙醇回流提取黄精中小分子糖, 然后通过 D101 大孔吸附树脂柱、活性炭柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析分离纯化, 得灰白色粉末状黄精低聚糖 (RPO-1), 对其进行理化性质鉴别和总糖测定。结果 RPO-1 为糖类化合物, 样品中不含酚类物质、淀粉、糖醛酸、大分子蛋白质、多肽和核酸, 用苯酚-硫酸法测定其总糖质量分数为 91.3%。结论 黄精低聚糖的分离纯化方法有效、实用, 为进一步开发应用提供了技术方法和理论依据。

**关键词:** 黄精; 低聚糖; 分离纯化; 理化性质

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-528(2011)10-1831-03

黄精 *Polygonati Rhizoma* 是百合科黄精属 *Polygonatum* 多种植物的根茎, 《中国药典》(2010 版) 收录了滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.、黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 或多花黄精 *Polygonatum cyrtoneura* Hua. 的干燥根茎入药<sup>[1]</sup>。在民间同属其它一些植物的根茎也被当作黄精使用。作为一种传统常用中药, 其性平, 味甘, 入脾、肺、肾经, 具有补肾益精、滋阴润燥等功效, 临床上多作为滋阴补益药使用。所含化学成分丰富, 有黄精多糖、皂苷、生物碱、醌类化合物、强心苷、木脂素、维生素和多种人体必需的氨基酸等化合物<sup>[2]</sup>。糖类是中药中普遍存在的成分, 可分为单糖、低聚糖、多糖及其衍生物。作为构成生命体的最基本物质之一, 糖类在生命过程中起着极其重要的作用, 它不仅是能量储存和结构物质的存在形式, 同时也作为生物信息的载体存在<sup>[3]</sup>。其中低聚糖因具有低热量、高稳定性、安全无毒等特点, 近年来在保健、食品、医药等领域被广泛应用<sup>[4]</sup>。关于低聚糖的研究和应用也越来越受到人们的关注, 但是由于自身在组成、连接、衍生化、微观不均一性等方面的高度复杂性及其检测上的困难, 致使其分离纯化研究较少<sup>[5]</sup>。近年来关于黄精低聚糖的分析尚未见报道, 本实验首次对其分离纯化方法进行探

索性研究, 以期对低聚糖的综合开发利用提供科学依据。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 METTLER AE240 电子分析天平 (瑞士 METTLER TOLEDO 公司); DHG-9146A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); Revco ULT 1386-3-V39 型超低温冰箱 (美国 Thermo 公司); Labconco Free Zone 6L 真空冷冻干燥机 (美国 Labconco 公司); UV-2201 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司)。

1.2 试剂 黄精药材采集于河南省洛阳市栾川龙峪湾, 经河南中医学院生药教研室董诚明教授鉴定为百合科黄精属植物黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 的干燥根茎。将采挖的新鲜黄精除去芦头、须根及泥沙, 清蒸 1 h 后干燥, 粉碎, 过 20 目筛, 备用。D101 大孔吸附树脂 (沧州宝恩化工有限公司); 活性炭粉末 (天津市福晨化学试剂厂); 硅藻土 (天津市永大试剂化学开发中心); 薄层层析硅胶 G (青海海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 (瑞典 GE Healthcare 公司); 茚三酮 (上海市灵锦精细化工有限公司); 咔唑 (国药集团化学试剂有限公司); 葡萄糖 (天津市科密欧化学试剂开发中心); 蔗

收稿日期: 2010-12-14

基金项目: 河南省重大科技攻关项目 (200422030700)

作者简介: 王彦志 (1976—), 女, 副教授, 研究方向: 中药药效物质基础研究

\* 通信作者: 杨云, 女, 硕士生导师, 教授。Tel: (0371) 65680605, E-mail: Yyun@china.com.cn