

不同炮制方法对内蒙黄芪中 γ -氨基丁酸含量的影响

浙江省中药研究所植化分析室 邢振荣 王溶溶 赵 岚

提 要 本文对三种不同炮制方法(传统法, 药典法与新法)的内蒙黄芪用双波长薄层扫描法对 γ -氨基丁酸进行含量测定, 回收率达100.4%, 变异系数为0.016%。该法快速、简便、灵敏度高。

黄芪系豆科植物。黄芪品种较多, 最常用的是膜荚黄芪 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.) 及内蒙黄芪 (*Astragalus membranaceus* Bge Var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao) 其干燥根于炮制后入药。传统法和药典法是将生黄芪切片, 加蜂蜜手工炒制而成, 炮制较为粗糙, 工艺不统一。新法为蜜炙烘黄芪。

黄芪具有补气固表, 利尿, 托毒排脓等作用, 其化学成分比较复杂。近年来国内外对黄芪的研究较多, 据报导^{[1][2][3]}主要有黄芪多糖、各种氨基酸、黄酮和微量元素。据报导黄芪的降压成分为 γ -氨基丁酸^[4], 同时指出其降压作用的强弱与 γ -氨基丁酸含量成正比, 从而提出测定 γ -氨基丁酸可作为生药优劣的指标。本实验选择 γ -氨基丁酸为指标, 通过考察其含量变化, 来权衡各种炮制方法, 为内蒙黄芪炮制工艺改革提供依据。

实验与结果

一、仪器与药品

仪器: CS-930双波长薄层扫描仪

标准品: 化学纯 γ -氨基丁酸, 纯度 98.5%

样品: 按药典法〔炒〕、传统法(炒)、新法(烘)炮制的黄芪均由杭州胡庆余堂制药厂提供(系同一批内蒙黄芪)。

二、测定方法

1. 标准溶液的制备

精密称取 γ -氨基丁酸标准品 99.8mg (相当于纯品 98.303mg), 置 100ml 容量瓶中, 用70%乙醇定容, 备用。

2. 样品溶液的制备

精密称取样品 5g, 加 95% 乙醇 50ml, 于 60~70℃ 水浴中温浸三次, 每次 1 小时, 合并提取液, 减压浓缩至干, 用 70% 乙醇定容 25ml 备用。

3. 薄层层析

铺板: 8g 硅胶 G+0.5%CMC-Na 20ml 研匀, 铺于 $20 \times 20 \text{cm}^2$ 的板上, 阴干, 放烘箱中于 105°C 恒温活化 1 小时, 置干燥器中备用。

展开系统: 95%乙醇:水:氨水 (30:20:2)

点样器: $5\mu\text{l}$ 定量毛细管 [取 $5\mu\text{l}$ 标准液点样, 在不同板上重复 5 次, 测得峰面积, 相对偏差为 2.5%]

展开方式: 上行, 展距 17cm (饱和数分钟)

显色: 层析后的薄层板挥干溶剂, 用 1% 茚三酮乙醇溶液喷雾, 于 110°C 烘箱中烘数分钟, 可见紫色斑点。

4. 薄层扫描

(1) 测定条件: 反射式锯齿扫描

狭缝 $1.25 \times 1.25 \text{mm}$

灵敏度: 中

线性参数 $S_x = 3$

峰检出方式: 面积法

波长的确定: 对标准品

斑点进行光谱测定, 以其在可见区的最大吸收波长为样品波长 $\lambda_s = 535 \text{nm}$ 详见图 1。

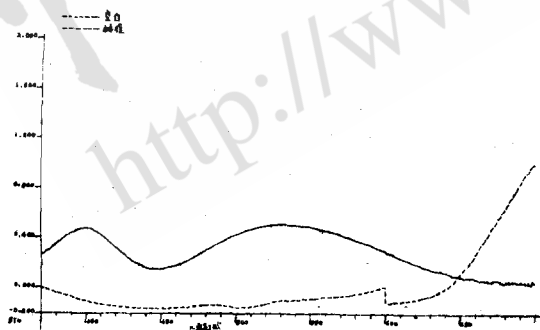


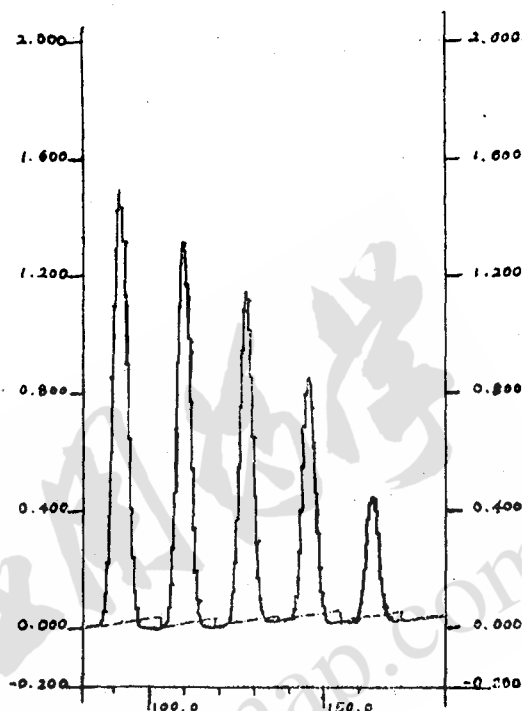
图 1 吸收光谱扫描图

三、实验结果

1. 标准曲线的绘制

用定量毛细管分别吸取标准溶液 1、2、

3、4、 $5\mu\text{l}$, 在同一薄板上点样, 按上述条件展开后进行扫描, 详见图 2。



No	YPOS	AREA	NARK	%
1	91.6	110921.4		30.5
2	109.3	92630.6		25.4
3	126.1	77237.1		21.2
4	144.1	55134.49		15.1
5	163.8	27563.98		7.5

图 2 r-氨基丁酸标准
曲线扫描图谱

用最小二乘法对标准溶液浓度和色谱吸收峰面积进行回归分析, 得回归方程为:

$$A = 20421.1C + 11434.2$$

$$r = 0.9936$$

式中 A—色谱吸收峰面积

C—标准溶液体积 (μl)

其面积积分值与浓度呈线性关系。

2. 含量测定

(1) 回收率测定

精密称取标准 r-氨基丁酸 20mg, 按

样品液的制备方法制备, 点样、展开、并进行扫描测定, 结果见表 1

表 1 r-氨基丁酸回收率

加入标准品 (B) mg	测得r-氨基丁酸量 (A) mg	回收率 (A/B)%
21.38	21.08	98.60
21.33	21.18	99.06
19.16	19.36	101.0
19.16	19.70	102.8
19.16	19.06	99.48
19.16	19.40	101.3

$$\bar{x} = 100.4\% \quad SD = 1.6005$$

$$CV = 0.016\%$$

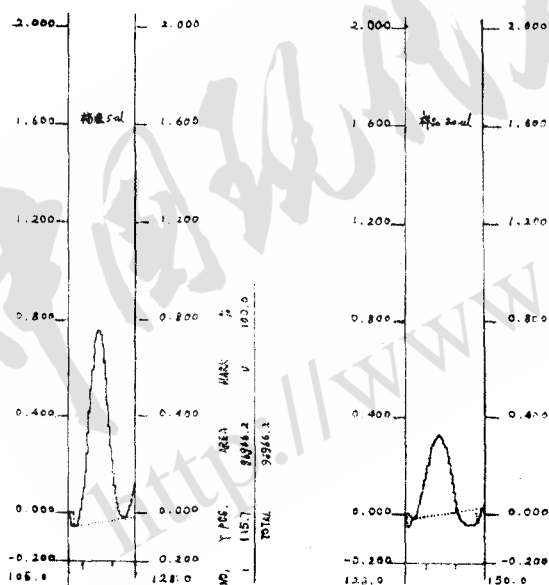
(2) 样品测定

将上述三种样品溶液 20 μ l, 标准溶液 5 μ l, 分别点于层析板上, 展开后扫描测定峰面积。

测定结果见表 2、图 3。

表 2 不同炮制方法所测得 r-氨基丁酸含量

炮 制 方 法	含 量 (%)					
	x		x̄			
药 典 法(炒)	0.0788	0.0800	0.0696	0.0836	0.0780	3.552 × 10 ⁻⁵
传 统 法(炒)	0.0750	0.0682	0.0876		0.0769	9.689 × 10 ⁻⁵
新 法(烘)	0.0780	0.0767	0.0749	0.0783	0.0706	0.9925 × 10 ⁻⁵



NO	YPOS	AREA	MARK	%
1	135.5	53519.95		100.0
TOTAL		53519.95		

图 3 r-氨基丁酸含量测量扫描图谱

为了比较表 2 中每两组平均值是否有显著性差异, 对其进行了统计检验。

结果表明:

药典法与新法之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

传统法和新法之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

药典法与传统法之间也无显著性差异 ($P > 0.05$)。

小 结

1. 从实验可知, 本法能将内蒙黄芪中 r-氨基丁酸与其它成分有效分离, 扫描图谱清晰, 方法可靠, 是一种精确快速的测定方法。

2. 从本实验看, 药典法、传统法和新法之间无显著性差异。为今后内蒙黄芪炮制工艺改革提供含量分析的依据。

参 考 文 献

- [1] 方圣鼎等: 有机化学 1982, 1, 26
- [2] 王志学等: 中草药 1983, (14), 3, 1~3
- [3] C. A. 57:138876
- [4] Hiroshi Hikino, Shinji Funayama, Katsuya Endo, Planta Medica 30, Heft4, 297-302 1976.