

增加,有效改善 IR 冠脉微循环缺血部位的血液灌流,缩小无复流面积。刘启功等^[6]实验证实丹参注射液能促进冠脉侧枝循环的开放和形成,并认为前者可能与其冠脉扩张作用有关,后者可能与丹参能使心肌血管内皮生长因子(VEGF)表达上调有关。张洁等^[7]发现丹参酮对原代培养猪冠脉平滑肌上 ATP 敏感的钾通道和钙激活钾通道均有直接激活作用,并由此推测可能由于上述通道的开放协同钙通道阻滞作用可引起冠脉舒张,改善冠脉平滑肌的功能状态。本实验的研究显示使用丹参酮治疗后,与对照组大白兔的心肌梗死面积有统计学差异,支持这种推测,其具体机制有待更多深入的研究。

REFERENCES

- [1] MOENS A L, CLAEYS M J, TIAMERMAUS J P. Myocardial ischemia/reperfusion – injury, a clinical view on a complex pathophysiological process [J]. *Int J Cardiol*, 2005, 100(2): 179-190.
- [2] GUO Q, CHEN S Y, YAO X J, et al. Protective effect of corocinnarine on ischemia – reperfusion myocardium of rats and its relation to anti-lipid peroxidation [J]. *Chin Heart J(心脏杂志)*, 2002, 14(1): 4-6.
- [3] XU C Y, YANG J R, LIU X P, et al. Effects of Danshen glucose injection on the biochemical indexes in dogs by coronary artery ligation [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2006, 12(2): 43-45.
- [4] SUN X G, JIA Y H, ZHANG L H. Effect of tanshinone of intracellular free catantial in normal and hypoxia myocytes of rats [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志)*, 2002, 9(9): 21-23.
- [5] PEI F, FAN B J, ZHAO X J. Effects of compound Danshen dripping pills on myocardial microcirculation after myocardial ischemia reperfusion injury of rats [J]. *Chin J Gerontol(中国老年学杂志)*, 2008, 28(23): 2316-2317.
- [6] LIU Q G, SUN Y M, CHEN Y X, et al. Restrictive effect of *Salvia miltiorrhiza* on myocardial infarct area in dogs and its possible mechanism [J]. *China J Mod Med(中国现代医学杂志)*, 2005, 15(15): 2257-2259.
- [7] ZHANG J, ZENG X R, YANG Y, et al. Effect of sodium tanshinone II A on KATP, BKCa of coronary artery smooth muscle of primary porcine cells [J]. *J Luzhou Med Coll(泸州医学院学报)*, 2000, 23(3): 177-179.

收稿日期: 2013-03-29

水杨酸和牛血清白蛋白的相互作用研究及共存铜离子的影响

王旭¹, 吴淑春¹, 王家学¹, 郑青², 郭玉华²(1.浙江医学高等专科学校, 杭州 310053; 2.湖州师范学院生命科学学院, 浙江 湖州 313000)

摘要: 目的 研究铜离子对水杨酸与血清白蛋白相互作用的影响。方法 采用荧光光谱技术研究了不同温度下水杨酸与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用及铜离子对水杨酸-BSA 体系的影响。结果 运用理论模型处理实验数据, 得到水杨酸与牛血清白蛋白(BSA)的猝灭常数、结合常数、结合力类型等相互作用参数。结论 铜离子存在时, 不改变水杨酸对 BSA 内源荧光的猝灭类型和水杨酸-BSA 分子间作用的类型, 但使水杨酸与 BSA 的表观结合常数增大。

关键词: 水杨酸; 牛血清白蛋白; 铜离子; 荧光光谱法

中图分类号: R913

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)10-1066-05

Interaction of Salicylic Acid with Bovine Serum Albumin and the Effect of Coexistent Cu²⁺ on the Reaction

WANG Xu¹, WU Shuchun¹, WANG Jiaxue¹, ZHENG Qing², GUO Yuhua²(1.Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China; 2.Faculty of Life Science, Huzhou Teachers College, Huzhou 313000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the interactions of salicylic acid and bovine serum albumin (BSA) in the presence of Cu²⁺. **METHODS** The interaction between salicylic acid and BSA was investigated using fluorescence at different temperatures. The effect of Cu²⁺ on the salicylic acid-BSA system was also researched. **RESULTS** The quenching constants, binding constants and binding force type were measured according to theory model. **CONCLUSION** The presence of Cu²⁺ doesn't change quenching type and force type between salicylic acid and BSA, but the apparent association constant(*K_{LB}*)

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LQ12B03001); 浙江医学高等专科学校一般研究计划项目(2013B04)

作者简介: 王旭, 女, 博士, 副教授 Tel: (0571)87692890 E-mail: wangxu.linda@163.com

becomes higher.

KEY WORDS: salicylic acid; bovine serum albumin; Cu^{2+} ; fluorescence spectrometry

水杨酸是临床常用药物,有抗真菌和溶解角质等多效药理活性。常用药物“阿司匹林”即乙酰水杨酸,在生物体内能很快被转化为水杨酸。血清白蛋白是血浆中最为丰富的蛋白质,能与多种内源或外源性物质结合,起到存储与转运的作用^[1]。铜是生命体中所必须的微量元素,同时作为各种金属酶的活性中心是生物体内载氧蛋白活性部位的基本成分^[2-3]。药物小分子与血清白蛋白之间的复合物通常是借助于分子间作用力而形成的超分子化合物,而体内的微量金属元素既可能与药物小分子形成配合物,也可能影响蛋白质-药物超分子体系^[4-5]。故从不同角度研究蛋白质-药物之间及其在金属离子存在情况下的结合反应,有助于了解药物在体内的运输和分布情况,对于阐明药物的运输、毒性、代谢过程及了解蛋白质的结构与功能关系具有重要意义。

因牛血清白蛋白(BSA)与人血清白蛋白高度同源,已被广泛用作蛋白质模型化合物进行研究^[6]。荧光光谱法是研究生物大分子,特别是蛋白质与各种有机小分子、离子和无机化合物相互作用的重要手段^[2,7-8]。为了深入考察铜离子对水杨酸与蛋白质之间的相互作用的影响,本实验用荧光光谱研究铜离子对水杨酸与牛血清白蛋白(BSA)相互作用的影响,运用理论模型处理实验数据得到猝灭常数、结合常数、结合力类型等重要相互作用参数。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

FP-6200 型荧光分光光度计(日本 Jasco 公司); Finnpiptette 移液器(上海雷勃分析仪器有限公司) 5~50 μL , 20~200 μL ; TB-85 型超级恒温器(日本 Shimadzu 公司); UPWS-10T 超纯水器(杭州永洁达净化科技有限公司); AB265-S 电子分析天平(瑞典 METTER TOLEDO 公司)。

BSA 溶液:以 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH}=7.4$ 的 Tris-HCl 溶液配制,以 $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 维持离子强度,浓度为 $1.0\times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。水杨酸溶液:以 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH}=7.4$ 的 Tris-HCl 溶液配制,浓度为 $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。CuCl₂ 溶液:以 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH}=7.4$ 的 Tris-HCl 溶液配制,浓度为 $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

BSA 为生化试剂,购于华东医药集团有限公

司。水杨酸、三羟基氨基甲烷(Tris)(纯度 $\geq 99.9\%$)、HCl(浓度为 36%~8%)、NaCl(含量 $\geq 99\%$)、CuCl₂(含量 $\geq 99\%$)均为分析纯;实验用水为超纯水器处理的超纯水。

1.2 实验方法

BSA 荧光激发和发射光谱的测定:移取一定量 BSA 溶液于石英比色皿中,设置发射波长为 280 nm,狭缝宽度为 5 nm,在室温(298 K)下绘制 250~350 nm 的荧光激发光谱,测得其最大激发波长为 282 nm;并在其最大激发波长处设置狭缝宽度为 5 nm,在室温(298 K)下绘制 300~500 nm 的荧光发射光谱,得到荧光发射光谱的最大发射波长为 345 nm。

不同浓度水杨酸对 BSA 的荧光滴定:在一系列 10.0 mL 比色管中,准确移取 2.0 mL BSA 溶液,用微量注射器加入不同体积的水杨酸溶液,加 Tris-HCl 溶液定容至 10.0 mL,作用 1 h 后,在最大激发波长为 282 nm 处,在 280~500 nm 内扫描 BSA 的荧光发射光谱。

铜离子存在时不同浓度水杨酸对 BSA 的荧光滴定:在一系列 10.0 mL 比色管中,准确移取 2.0 mL BSA 溶液,用微量注射器加入 200 μL 的 CuCl₂ 溶液,用微量注射器加入不同体积的水杨酸溶液,加 Tris-HCl 溶液定容至 10.0 mL,作用 1 h 后,在最大激发波长为 282 nm 处,在 280~500 nm 内扫描 BSA 的荧光发射光谱。

2 结果与讨论

2.1 荧光猝灭现象

蛋白质分子中的色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸等氨基酸残基在一定波长的紫外光激发下能够发出荧光。因苯丙氨酸的荧光非常弱,所以荧光信号主要来自色氨酸和酪氨酸。故蛋白质的天然荧光及其变化直接反映了蛋白质中色氨酸、酪氨酸残基本身和周围环境的变化^[9]。

在无 Cu^{2+} 存在的情况下,随着水杨酸浓度的不断增加,BSA 的内源荧光强度逐渐降低,但激发峰和发射峰的峰形基本不变,结果见图 1。 Cu^{2+} 对水杨酸与牛血清白蛋白作用的荧光有协同猝灭作用,随着水杨酸浓度的增加,BSA 的内源荧光降低的强度更大,但激发峰和发射峰的峰形基本

不变, 结果见图 2。同时, 图 1 和图 2 在 409 nm 左右均出现了一个荧光发射峰, 且发射峰的强度

随着水杨酸浓度的增加而增强, 这是溶液中游离的水杨酸产生的^[10]。

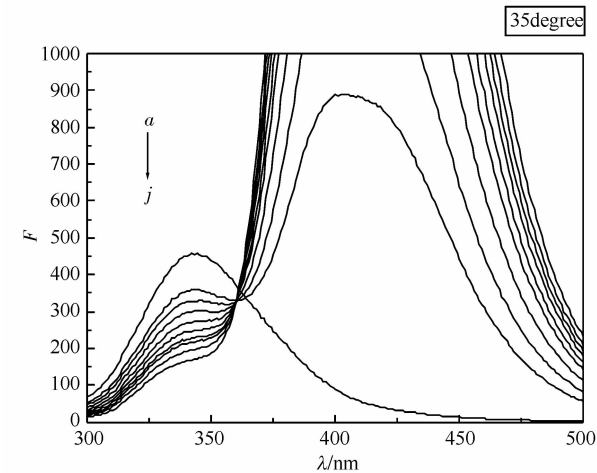


图 1 水杨酸-BSA 的荧光猝灭图
a→j-水杨酸浓度依次为: 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5 mol·L⁻¹
Fig 1 Fluorescence quenching of salicylic acid-BSA
a→j-the concentration of salicylic acid: 0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5 mol·L⁻¹

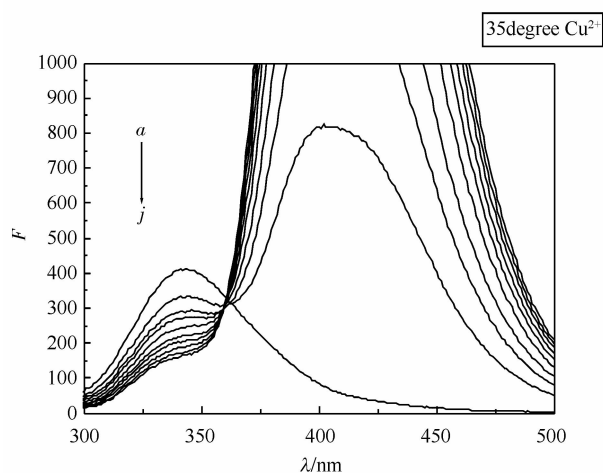


图 2 水杨酸-BSA-Cu²⁺的荧光猝灭图
a→j-水杨酸浓度依次为: 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5 mol·L⁻¹
Fig 2 Fluorescence quenching of salicylic acid-BSA-Cu²⁺
a→j-the concentration of salicylic acid: 0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5 mol·L⁻¹

2.2 猝灭机制

引起 BSA 荧光猝灭的原因可能是动态猝灭或静态猝灭。前者是一种能量转移或电子转移过程, 不影响蛋白质的结构和生理活性。后者则是由于发生了配合作用, 通常是产生了不发荧光的配合物, 对蛋白质的二级结构可产生影响, 并可影响其生理活性。为了判断水杨酸引起的 BSA 荧光猝灭是动态猝灭还是静态猝灭, 根据猝灭效率遵循的 Stern-Volmer 方程:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv} [Q] = 1 + K_q \tau_0 [Q] \quad (1)$$

式中 F_0 和 F 分别表示未加入和加入猝灭剂时的相对荧光强度, K_{sv} 表示动态猝灭常数, K_q 表示双分子猝灭过程的速率常数, τ_0 为不存在猝灭剂分子时荧光分子的平均寿命 ($\tau_0=10^{-8}$ s), $[Q]$ 表示猝灭剂的浓度。作 $F_0/F \sim [Q]$ 关系图, 得到不同温度下 K_{sv} 的值见表 1。

表 1 不同温度下水杨酸与 BSA 的荧光猝灭常数 K_{sv} 及线性相关系数 r

Tab 1 Quenching constants K_{sv} , correlation coefficient r of salicylic acid-BSA at different temperatures

溶 液	$K_{sv}(10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$		
	25 °C	35 °C	45 °C
水杨酸-BSA	4.784($r=0.996\ 2$)	4.656($r=0.999\ 4$)	4.509($r=0.999\ 2$)
水杨酸-BSA-Cu ²⁺	5.868($r=0.997\ 9$)	5.375($r=0.997\ 6$)	5.014($r=0.995\ 0$)

由(1)式知 $K_q=K_{sv}/\tau_0$, 由表 1 中 K_{sv} 计算得 K_q , K_q 的数量级为 10^{12} , 远大于各类猝灭剂对生物大分子最大扩散碰撞猝灭速率常数 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[11], 且 K_{sv} 随着温度的升高有所减小, 由此断定不管 Cu²⁺ 存在与否, 水杨酸对 BSA 的猝灭不是由于分子间碰撞引起的动态猝灭, 而是由于形成不发光复合物的静态猝灭。

从表 1 中水杨酸对 BSA 的猝灭常数 K_{sv} 可知, Cu²⁺ 存在时, 对水杨酸与牛血清白蛋白作用的荧光有协同猝灭作用, 能提高水杨酸与 BSA 的结合能力, 猝灭常数 K_{sv} 比 Cu²⁺ 不存在时大, 表明 Cu²⁺ 对 BSA 的内源荧光猝灭效应有所增强, Cu²⁺ 可能参与了 BHA-BSA 形成配合物的作用过程。

2.3 结合常数

在静态猝灭中, 结合常数 K_{LB} 与荧光强度、猝灭剂浓度之间的关系可以用 Lineweaver-Burk 双倒数方程表示^[8]:

$$\frac{1}{F_0 - F} = \frac{1}{F_0} + \frac{K_D}{F_0 [Q]} = \frac{1}{F_0} + \frac{1}{K_{LB} F_0 [Q]} \tag{2}$$

表 2 不同温度下水杨酸与牛血清白蛋白配合物的离解常数 K_D 与结合常数 K_{LB}

Tab 2 Dissociation costants K_D and binding constants K_{LB} of salicylic acid-BSA at different temperatures

溶 液	25 ℃		35 ℃		45 ℃	
	$K_D(10^{-5})$	$K_{LB}(10^4)$	$K_D(10^{-5})$	$K_{LB}(10^4)$	$K_D(10^{-5})$	$K_{LB}(10^4)$
水杨酸-BSA	6.969 7	1.434 8	8.750 0	1.142 9	9.697 0	1.031 2
水杨酸-BSA-Cu ²⁺	5.625 0	1.777 8	7.058 9	1.416 7	7.894 7	1.266 7

金属离子直接影响药物与蛋白质的结合, 不同金属离子对不同药物分子与蛋白质结合有截然不同的两种影响: 一是对药物与蛋白质结合有减小作用^[12-13], 二是对药物与蛋白质的结合有增强作用^[7-8]。一般认为, 前者主要是由于金属离子与蛋白质的作用, 导致蛋白质与药物结合的紧邻区域构型发生改变, 从而削弱了药物与蛋白质的结合; 后者则主要是由于金属离子同时与药物和蛋白质结合, 在药物和蛋白质分子间形成“离子架桥(metal ionbridge)”, 从而起到增强作用。Cu²⁺的存在使 BSA 与水杨酸的结合常数略有增大, 属于第 2 种情况。这个过程中, Cu²⁺的参与降低了药物小分子的游离浓度, 这样便增强了药物与蛋白质的结合力, 对延长药物作用时间、减小药物毒性的临床治疗是有效的。

2.4 水杨酸与 BSA 之间作用力的推测

一般情况下, 药物小分子与蛋白质大分子间的非共价相互作用属分子间的弱相互作用, 包括氢键、范德华力、静电和疏水等多种相互作用形式, 当温度变化不大时, 可将焓变视为常数。根据热力学公式可计算药物小分子与生物大分子结合过程的有关热力学参数:

$$\Delta G = -RT \ln K_{LB} = \Delta H - T\Delta S \tag{3}$$

$$\Delta H = [RT_1 T_2 \ln(K_{LB2} / K_{LB1})] / (T_2 - T_1) \tag{4}$$

$$\Delta S = (\Delta H - \Delta G) / T \tag{5}$$

由热力学参数可简单判断其结合作用类型^[14]: 若 $\Delta H > 0$ 及 $\Delta S > 0$, 则主要表现为疏水作用; $\Delta H < 0$ 及 $\Delta S > 0$ 主要表现为静电作用; $\Delta H < 0$ 及 $\Delta S < 0$ 主要表现为氢键或范德华力。根据实验得到不同温度下各体系的 K_{LB} 值, 由此求出其结合过程的热力学参数, 见表 3。

处理实验数据, 通过作 $\frac{1}{F_0 - F} \sim \frac{1}{[Q]}$ 图, 可由

直线的斜率和截距求得解离常数 K_D , 进而求得结合常数 K_{LB} , 见表 2。

表 3 不同温度下水杨酸-BSA 作用过程的热力学参数

Tab 3 Thermodynamic parameters of salicylic acid-BSA at different temperatures

溶 液	T/℃	$\Delta H / \text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta G / \text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta S / \text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
水杨酸-BSA	25	-4.98	-23.87	63.39
	35	-4.98	-23.31	59.51
	45	-4.98	-23.05	56.82
水杨酸-BSA-Cu ²⁺	25	-5.11	-23.41	61.41
	35	-5.11	-23.84	60.81
	45	-5.11	-23.56	58.02

由实验结果的热力学参数显示, 有无 Cu²⁺存在下, 水杨酸与 BSA 结合过程均为 $\Delta G < 0$ 、 $\Delta S > 0$, 表明其作用过程是一个熵增加, 自由能减小以静电引力为主的自发过程。但多数情况下, 有机小分子与蛋白质的反应是多种作用力协同作用的结果。

3 结论

荧光光谱实验表明, 在水溶液中, 由于水杨酸与 BSA 的结合而对 BSA 荧光产生了静态猝灭作用; 铜离子存在时, 不改变水杨酸对 BSA 内源荧光的猝灭类型, 但使水杨酸与 BSA 的表现结合常数增大。有无 Cu²⁺存在下, 水杨酸与 BSA 结合过程均为 $\Delta G < 0$ 、 $\Delta S > 0$, 表明其作用过程是一个熵增加, 自由能减小以静电引力为主的自发过程。

REFERENCES

[1] YANG P. Introduction to Bioinorganic Chemistry(生物无机化学导论) [M]. Xi'an: Xi'an Jiaotong University Press, 1991: 164.

[2] SHAIKH S M T, SEETHARAMAPPA J, ASHOKA S, et al. A study of the interaction between bromopyrogallol red and bovine serum albumin by spectroscopic method [J]. Dyes and Pigments, 2007, 73(2): 211-216.

[3] ROY A S, TRIPATHY D R, GHOSH A K, et al. An alternate mode of binding of the polyphenol quercetin with serum albumins when complexed with Cu(II) [J]. Journal of

- Luminescence, 2012, 132(11): 2943-2951.
- [4] ULRICH K H. Molecular aspects of ligand binding to serum albumin [J]. Pharmacol Rev, 1981, 33(1): 17-53.
- [5] MOSTAFA S, EI SADEK M, ALLA E A. Spectrophotometric determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and pefloxacin through charge transfer complex formation [J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 27(1/2): 133-142.
- [6] YU Y M, FENG J C, LIU Y. Spectroscopic study of the interaction between sulfamethoxazole and bovine serum albumin in the presence of Fe^{3+} [J]. Acta Chim Sin(化学学报), 2011, 69(2), 190-198.
- [7] WANG N, YE L, ZHAO B Q, et al. Spectroscopic studies on the interaction of efonidipine with bovine serum albumin [J]. J Med Biol Res, 2008, 41(7): 589-595
- [8] GUO M, WANG W, ZHOU J Z, et al. Study on the interaction between paclitaxel-iron(III) and bovine serum albumin [J]. Chem Res Appl(化学研究与应用), 2008, 20(4): 457-460
- [9] SHAO S, QIU J. Effecting of metal ions on the interaction between zidovudine and bovine serum albumin [J]. Acta Phys-Chim Sin(物理化学学报), 2009, 25(7): 1342-1346.
- [10] YU T Z, TAO Z Y. Fluorescence study on the interaction of salicylic acid and human serum albumin [J]. Spectrosc Spect Anal(光谱学与光谱分析), 1999, 19(3): 453-455.
- [11] LAKOWICZ J R, WEBER G. Quenching of fluorescence by oxygen. Probe for structural fluctuations in macromolecules [J]. Biochemistry, 1973, 12(21): 4161-4170.
- [12] LIU X F, XIA Y M, FANG Y, et al. Interaction between natural pharmaceutical homologues of coumarin and bovine serum albumin [J]. Acta Chim Sin(化学学报), 2004, 62: 1484-1490
- [13] FEI Y, LU G C, FANG G R, et al. Studies on interaction of sinafloxacin with bovine serum albumin and effect of the coexistent metal ions on the reaction [J]. Spectrosc Spect Anal(光谱学与光谱分析), 2008, 28(11), 2609-2614.
- [14] ROSS P D, SUBRAMANIAN S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability [J]. Biochemistry, 1981, 20(11), 3096-3102.

收稿日期: 2012-12-25

益智多糖含量测定

赵祥升¹, 董娜², 冯锦东¹, 杨美华^{1,3} (1.中国医学科学院药用植物研究所海南分所, 海南 万宁 571533; 2.河南科技学院生命科技学院, 河南 新乡 453003; 3.中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要: 目的 研究益智中多糖含量的测定方法。方法 水提醇沉法提取粗多糖, Sevage 法除蛋白, H_2O_2 脱色, 流水透析和冷冻干燥制备多糖。1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)柱前衍生, HPLC 测定其单糖组成。以益智精制多糖测得多糖对葡萄糖的换算因子, 苯酚-硫酸法测定益智中多糖的含量。结果 益智多糖由葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、甘露糖和阿拉伯糖 5 种单糖组成。益智多糖含量为 12.91%, $\text{RSD}=4.72\%(n=5)$, 平均加样回收率为 99.1%, RSD 为 4.57%($n=5$)。结论 该法简便, 快捷, 可用于益智多糖的含量测定。

关键词: 益智; 多糖; 单糖; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2013)10-1070-05

Determination of Polysaccharides Content in *Alpinia Oxyphylla*

ZHAO Xiangsheng¹, DONG Na², FENG Jindong¹, YANG Meihua^{1,3} (1.Hainan Branch Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medicinal Sciences, Wanning 571533, China; 2.Life Science and Technology Department, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China; 3.Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for content determination of polysaccharides in *Alpinia oxyphylla*. **METHODS** The crude polysaccharides were extracted by hot water and precipitated with ethanol. The purified polysaccharide was obtained by removing protein and colors with Sevage and H_2O_2 , respectively, then run water dialysis and frozen-drying. The monosaccharide composition was determined by HPLC after precolum-derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP). The conversion coefficient of *Alpinia oxyphylla* polysaccharides to glucose was obtained by refined polysaccharides, and then the content of crude polysaccharides in *Alpinia oxyphylla* was determined by sulfuric acid-phenol method. **RESULTS** The monosaccharide compositions in polysaccharides from *Alpinia oxyphylla* were Glu, Rha, Gal, Man, and Ara. The content of polysaccharides was 12.91% ($\text{RSD}=4.72\%$, $n=5$), and the average recovery was 99.1% with RSD of 4.57% ($n=5$). **CONCLUSION** The method is sample, and can be used for determination of the content of polysaccharides from *Alpinia*

基金项目: 中央公益性基金项目(2011HNB04); 海南省中药现代化专项项目(2010ZY011)

作者简介: 赵祥升, 男, 助理研究员 Tel: (0898)62553667 E-mail: xiangsheng437@163.com