

茯苓不同药用部位化学成分分析

许甜甜¹,金传山¹,吴德玲¹,张 伟¹,王 进²

(1. 安徽中医学院药学院 现代中药安徽省重点实验室,安徽 合肥 230031;

2. 安徽亚泰天然植物科技有限公司,安徽 金寨 237300)

[摘要]目的 比较茯苓不同药用部位化学成分的含量,为茯苓药材产地加工的产业化研究和临床用药提供参考依据。方法 分别采用紫外分光光度法、高效液相色谱法测定茯苓不同药用部位中水不溶性多糖、茯苓酸的含量。结果 茯苓不同药用部位的水不溶性多糖含量大小依次为白茯苓、茯神、赤茯苓、茯苓皮,茯苓酸含量大小依次为赤茯苓、茯苓皮、白茯苓、茯神。结论 茯苓不同药用部位的化学成分分布存在一定的差异,茯苓酸和茯苓水不溶性多糖的含量与临床用药的选择有关联;所建立的多指标成分含量测定方法准确可靠,可用于茯苓药材质量的评价。

[关键词]茯苓;药用部位;茯苓水不溶性多糖;茯苓酸

[中图分类号]R284.1 **[文献标志码]**A **[DOI]**10.3969/j.issn.1000-2219.2013.01.026

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核^[1],根据不同药用部位,在加工过程中将茯苓分为白茯苓、赤茯苓、茯苓皮以及茯神4种类型。白茯苓为茯苓菌核白色部分,具有补脾利窍的功效;赤茯苓为干燥菌核近外皮部的淡红色部分,甘淡渗泄,尤能清利湿热,为湿热诸证所常用;茯苓皮为茯苓菌核的外皮,味甘淡,功能渗湿,长于利水消肿;部分茯苓中间抱有松根被称为茯神,有宁心安神的作用。茯苓药材的化学成分主要包括茯苓多糖、三萜等,茯苓多糖含量约占茯苓干燥菌核的93%^[2],其中茯苓水不溶性多糖是一种带有(1→6)支链的(1→3)链接的 β -D-葡聚糖,经化学修饰后有明显的抗肿瘤活性,而以茯苓酸为代表的三萜类成分具有利水渗湿的作用^[3]。目前茯苓加工工艺较为粗放,且没有统一标准,造成不同规格的茯苓药材在不同批次之间质量有较大差异。因此笔者采用紫外分光光度法和高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定茯苓、赤茯苓、茯苓皮中水不溶性多糖^[4]和茯苓酸含量^[5],从而为茯苓药材加工的产业化研究和临床用药提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Shimadzu LC-15C型高效液相色谱仪(LC-15C泵、SPD-15C紫外检测器、DT-230A型柱温箱、LC Solution-15C色谱工作站);AT系列溶剂

过滤器,UV757CRT紫外可见分光光度计;上海精科;AS3120型超声清洗仪;Autoscience公司,CP225D型十万分之一电子天平;德国Sartorius公司,WL-100型打粉机;瑞安市威力制药机械厂,HHS111-2型电热恒温水浴锅;北京长安科学仪器厂。

1.2 试药 茯苓药材采于安徽省金寨县桃岭乡桐岗村,经安徽中医学院方成武教授鉴定为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,本研究所用的茯神、白茯苓、赤茯苓、茯苓皮均由实验室加工制得。

茯苓酸:上海中药标准化研究中心(批号09-1016);无水葡萄糖:上海润捷化学试剂有限公司(批号20100726);甲醇、乙腈为色谱纯;天津大茂化学试剂厂;水为纯净水;杭州娃哈哈饮料科技有限公司;硫酸、5%苯酚溶液、NaOH、磷酸等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC测茯苓酸含量

2.1.1 色谱条件与系统适用性实验: Diamonsil-C18色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m),流动相乙腈:0.1%磷酸水溶液(75:25),柱温30℃,流速1.0 ml/min,进样量20 μ l,检测波长为210 nm。茯苓酸在此色谱条件下保留时间为25 min左右,且与杂质峰的分离度大于1.5,理论塔板数均大于3 000,色谱峰对称性良好。见图1。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取对照品茯苓酸5.84 mg,置于10 ml容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得浓度为0.584 mg/ml对照品溶液。

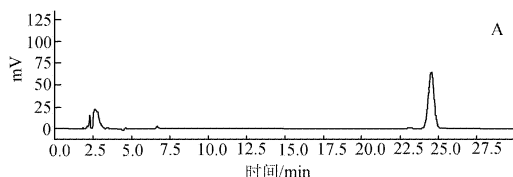
2.1.3 供试品溶液的制备:样品粉碎过60目筛后

基金项目:安徽省金寨县桃岭茯苓 GAP 种植和加工专家大院;国家国际科技合作专项项目(2011DFA3195)

作者简介:许甜甜(1989-),女,硕士研究生

通信作者:金传山, jcs4@sohu.com

混匀,取2 g,精密称定,放入100 ml三角烧瓶中,加入甲醇20 ml,称定质量,超声(功率100 W)40 min,



放冷,用甲醇补充损失的质量,以0.45 μm微孔滤膜过滤,续滤液即为供试品溶液。

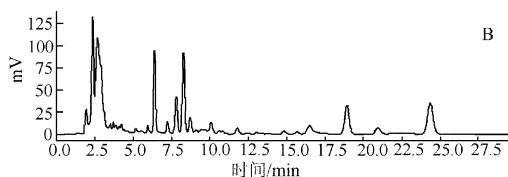


图1 茯苓对照品(A)和样品(B)HPLC色谱图

2.1.4 线性关系考察:精密移取对照品溶液0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml于5 ml容量瓶中,加甲醇稀释到刻度,配制不同浓度的对照品溶液。按上述色谱条件进样测定,以峰面积(A)为纵坐标,茯苓酸浓度(c)为横坐标,绘制标准曲线,并计算回归方程: $A=1 \times 10^7 c + 127\,312$, $r=0.999\,7$,表明茯苓酸在0.058 4~0.584 mg/ml范围内峰面积与浓度间有良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液20 μl,进样,连续6次, $RSD=1.04\%$ 。试验结果表明仪器的精密度良好。

2.1.6 重复性试验:精密称取过60目筛的白茯苓药材粉末6份,约2 g,制备6份供试品,在上述色谱条件下,进样20 μl,计算样品中茯苓酸的平均百分含量为0.090 4%, $RSD=0.81\%$ 。结果表明此法的重复性良好。

2.1.7 稳定性试验:精密吸取同一样品溶液分别在配制后0、3、6、9、12、15 h测定,以茯苓酸峰面积计算, $RSD=2.26\%$ 。结果表明供试品在15 h内稳定。

2.1.8 加样回收率试验:精密吸取已知含量供试液6份,各1 ml,再分别加入1 ml标准品溶液。在上述色谱条件下,计算平均回收率为99.89%, $RSD=0.16\%$ 。结果表明该方法的准确度良好。

2.2 紫外分光光度法测定茯苓水不溶性多糖含量

2.2.1 对照品溶液的配制:精确称取105℃干燥至恒质量的葡萄糖标准品3.14 mg,置于10 ml容量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,配成0.314 mg/ml的标准溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:称取样品约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入10 ml甲醇超声40 min,滤过,弃去滤液,滤渣挥干溶剂后加入1 mol/L NaOH溶液50 ml,静置12 h,抽滤,取续滤液1 ml于50 ml容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,备用。

2.2.3 线性关系考察:吸取配制的葡萄糖溶液0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、1.0 ml于具塞试管中,再分别依

次加入0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0 ml蒸馏水,每管加入5%苯酚溶液1 ml、浓硫酸5 ml,摇匀,放置5 min后置沸水浴中加热15 min,冷水浴中冷却至室温。同法以1 ml蒸馏水作空白对照。于490 nm处测吸光度。以吸光度(A)对葡萄糖浓度(c)作回归处理,得回归方程 $A=2.376\,0 c - 0.001\,9$,相关系数 $r=0.999\,8$,线性范围为0.094 2~0.314 mg/ml。

2.2.4 精密度试验:精密吸取对照品溶液0.2 ml加入蒸馏水0.8 ml,用上述方法进行显色,以蒸馏水作空白对照,在490 nm下测定吸光度,连续测定6次, $RSD=0.25\%$ 。试验结果表明仪器的精密度良好。

2.2.5 稳定性试验:将供试品液按上法显色并测定吸光度,每隔5 min测定1次,连续测定30 min,后连续30 min测1次, $RSD=0.26\%$ 。结果表明样品液显色后在90 min内基本稳定。

2.2.6 重复性试验:精密称取过60目筛的白茯苓药材粉末6份,约0.5 g,制备6份供试品,按照上述实验方法,测定吸光度,计算样品中水不溶性多糖的平均百分含量为90.13%, $RSD=2.56\%$ 。结果表明此法的重复性良好。

2.2.7 加样回收率试验:精密移取已知多糖含量的供试品溶液6份,各0.1 ml,分别加入不同量的标准品溶液至1 ml,加入5%苯酚溶液1 ml,迅速滴加浓硫酸5 ml,立即摇匀,摇匀放置5 min后置沸水浴中加热15 min,冷水浴中冷却至室温,于490 nm处测吸光度,计算平均回收率为97.08%, $RSD=1.69\%$ 。结果表明该方法的准确度良好。

2.2.8 样品含量测定:分别吸取供试品溶液0.2 ml,加入0.8 ml蒸馏水于10 ml具塞试管中。样品中加入5%苯酚溶液1 ml,浓硫酸5 ml,摇匀,放置5 min后置沸水浴中加热15 min,冷水浴中冷却至室温,同法以蒸馏水作空白对照,于490 nm处测吸光度。

2.3 样品含量测定结果 按照上述实验方法测定茯苓不同药用部位水不溶性多糖和茯苓酸含量,结果见表1。

表1 茯苓不同药用部位化学成分含量(n=3)

药用部位	茯苓酸/%	水不溶性多糖/%
茯神	0.083 2	84.43
白茯苓	0.088 7	89.35
赤茯苓	0.300 0	68.29
茯苓皮	0.125 9	64.66

3 讨论

中医学认为,茯苓的不同药用部位有着不同的临床应用主治^[6],这与茯苓的化学成分有关。茯苓味甘、淡、性平,入药具有利水渗湿、益脾和胃、宁心安神之功效。现代医学研究表明,茯苓能增强机体免疫功能,茯苓多糖及其衍生物具有抗诱变、抗肿瘤及保肝脏作用^[7]。本研究结果表明,茯苓中水不溶性多糖含量大小依次为白茯苓、茯神、赤茯苓、茯苓皮,为茯苓中医临床应用提供科学依据,而茯神有宁心安神的功效,这可能与茯神木的成分有关,这有待进一步研究。

此外,研究表明,茯苓酸有明显的抗炎、抗氧化、抑菌的作用,这些药理活性偏向于茯苓利水消肿的作用^[8]。本研究结果显示,赤茯苓中茯苓酸含量约为白茯苓的4倍,约为茯苓皮的2.5倍,可为中医临床在清利湿热时选用赤茯苓、利水消肿时选用茯苓皮提供科学依据。

由上述结果可以看出,由于茯苓不同药用部位的化学成分含量存在差异,并且其质量与中医临床疗效关系密切,因此茯苓药材在产地加工过程中分成不同药用部位,对规范茯苓的产地加工工艺,区别饮片的不同临床应用有重要意义。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:240-241.
- [2] 康廷国. 中药鉴定学[M]. 北京:中国中医药出版社,2006:452.
- [3] 沈思,李孚杰,梅光明,等. 茯苓皮三萜类物质含量的测定及其抑菌活性的研究[J]. 食品科学,2009,30(1):95.
- [4] 段启,李霞兰,王少军,等. HPLC法测定茯苓皮中茯苓酸[J]. 中草药,2006,37(2):284-286.
- [5] 徐斌,管俊峰,於小波,等. 全国20个主要产地茯苓质量分析比较研究[J]. 中药研究与开发,2010,17(8):34-35.
- [6] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:554-560.
- [7] 翟伟宇. 茯苓多糖的药效学研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2005,26(8):935-936.
- [8] 沈思. 茯苓皮中三萜的提取、分离纯化及其活性研究[D]. 武汉:华中科技大学,2008:9-15.

(收稿日期:2012-08-11)

Analysis of Chemical Constituents in Different Medicinal Parts of *Poria Cocos*

XU Tian-tian¹, JIN Chuan-shan¹, WU De-ling¹, ZHANG Wei¹, WANG jin²

(1. School of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine & Anhui Key Laboratory for Modern Chinese Materia Medica, Anhui Hefei 230031, China; 2. Anhui Yatai Natural Plant Technology Company, Anhui Jinzhai 237300, China)

[Abstract] **Objective** To compare the chemical compositions of different medicinal parts of *Poria cocos*, and to provide a reference for industrial processing and clinical application of *Poria cocos*. **Methods** Ultraviolet spectrophotometry and high-performance liquid chromatography were used to measure the contents of water-insoluble polysaccharides and pachymic acid in different medicinal parts of *Poria cocos*. **Results** The content of water-insoluble polysaccharides was the highest in white *Poria cocos*, followed by *Poria cum Radix Pini*, *Rubra Poria*, and *Cortex Poriae Cocos*. The content of pachymic acid was the highest in *Rubra Poria*, followed by *Cortex Poriae Cocos*, white *Poria cocos*, and *Poria cum Radix Pini*. **Conclusion** The medicinal parts of *Poria cocos* have different chemical compositions. The contents of pachymic acid and water-insoluble polysaccharides are related to clinical medication. The established method for determining the chemical constituents in *Poria cocos* is accurate and reliable and can be used for evaluating *Poria cocos* because of its accuracy and reliability.

[Key words] *Poria cocos*; medicinal part; water-insoluble polysaccharides; pachymic acid