

# 苯酚-硫酸法结合校正因子法测定含半乳糖醛酸的多糖中的糖含量<sup>Δ</sup>

白瑞斌<sup>1\*</sup>, 马玉玲<sup>1</sup>, 张培<sup>1</sup>, 王燕萍<sup>1</sup>, 李应东<sup>2</sup>, 胡芳弟<sup>1#</sup> (1. 兰州大学药学院, 兰州 730000; 2. 甘肃中医学院附属医院, 兰州 730000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2974-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.26

**摘要** 目的: 建立一种基于苯酚-硫酸法结合校正因子法测定含半乳糖醛酸(GalA)的多糖中糖含量的方法。方法: 优化苯酚-硫酸法的测定条件, 以不同质量比的GalA-葡萄糖(Glc)混合对照品溶液绘制系列标准曲线并测定含GalA的党参多糖CPP1b样品中的糖含量, 在此基础上, 根据GalA-Glc质量比为0-100%时的回归方程, 以党参多糖CPP1b为参照多糖计算校正因子, 对样品中的糖含量测定结果进行校正, 并以与党参多糖CPP1b组成相同的混合单糖对照品对此方法合理性进行验证。结果: 经计算, 党参多糖CPP1b对Glc的校正因子为3.33, 验证试验中与党参多糖CPP1b组成相同的混合单糖对照品的糖含量测定结果为103.47%。精密性、稳定性试验的RSD<1%; 加样回收率为93.52%~107.35% (RSD=5.09%, n=6)。结论: 该研究建立的方法可准确测定类似于党参多糖CPP1b的含GalA的多糖中的糖含量。

**关键词** 多糖; 半乳糖醛酸; 党参多糖CPP1b; 苯酚-硫酸法; 校正因子法; 糖含量; 测定

## Content Determination of Saccharide in Polysaccharides Containing Galacturonic Acid by Phenol-sulfuric Acid Method Combined with Calibration Factor Method

BAI Ruibin<sup>1</sup>, MA Yuling<sup>1</sup>, ZHANG Pei<sup>1</sup>, WANG Yanping<sup>1</sup>, LI Yingdong<sup>2</sup>, HU Fangdi<sup>1</sup> (1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. The Affiliated Hospital of Gansu University of TCM, Lanzhou 730000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of saccharide in polysaccharides containing galacturonic acid based on phenol-sulfuric acid method combined with correction factor method. METHODS: The determination condition of phenol-sulfuric acid was optimized. A series of standard curves were drawn with galacturonic acid-glucose mixed control with different mass ratio. The content of saccharide in *Codonopsis pilosula* polysaccharides CPP1b samples containing galacturonic acid was determined. According to regression equation of galacturonic acid-glucose ratio of 0-100%, the correction factor was calculated by using *C. pilosula* polysaccharides CPP1b as the reference polysaccharide, and the results of content determination of saccharide were corrected. The rationality of this method was verified by using mixed monosaccharide control with same composition as *C. pilosula* polysaccharides CPP1b. RESULTS: The correction factor of *C. pilosula* polysaccharide CPP1b to glucose was 3.33; in validation test, the content of saccharide in mixed monosaccharide control with same composition as *C. pilosula* polysaccharides CPP1b was 103.47%. RSDs of precision and stability tests was <1%. The recoveries ranged 93.52%-107.35% (RSD=5.09%, n=6). CONCLUSIONS: The established method can accurately determine the content of saccharide in *C. pilosula* polysaccharides CPP1b containing galacturonic acid.

**KEYWORDS** Polysaccharides; Galacturonic acid; *Codonopsis pilosula* polysaccharides CPP1b; Phenol-sulfuric acid method; Correction factor method; Saccharide content; Determination

现代药理学研究证实, 党参具有抗肿瘤<sup>[1]</sup>、增强机体免疫力<sup>[2]</sup>等作用, 而党参多糖为其主要活性成分之一<sup>[3]</sup>。CPP1b是本课题组从党参中分离的一种酸性果胶多糖<sup>[4]</sup>, 是由鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、半乳糖(Gal)和

半乳糖醛酸(GalA)组成的杂多糖, 其中含有大量的GalA。本课题组发现, 对于党参多糖CPP1b这样一个高纯度多糖, 采用苯酚-硫酸法, 以葡萄糖(Glc)对照品溶液制备标准曲线, 所测得的糖含量仅为30.96%。该测定结果与高效凝胶色谱法测定结果相差甚远, 其中的原因值得深入探讨。杨鸿玲等<sup>[5]</sup>认为, 以某一种中性单糖为对照品测定酸性杂多糖中的总糖含量时, 由于糖醛酸与中性糖的吸光系数不同, 且二者形成糠醛衍生物的难易程度不同<sup>[6]</sup>, 使得测定结果往往不能真实反映样品中的总糖含量。Bornik MA等<sup>[7]</sup>认为, GalA不能完全转化为

<sup>Δ</sup> 基金项目: 甘肃中医药管理局科研项目 (No.GZK-2014-13、GZK-2015-19); 甘肃省科技支撑计划项目 (No.1504KFCA010); 兰州市科技计划项目 (No.2014-2-30)

\* 硕士研究生。研究方向: 多糖结构分析及活性研究。E-mail: bairb12@lzu.edu.cn

# 通信作者: 教授, 博士生导师。研究方向: 中药成分分离分析及中药新药研究。E-mail: hufd@lzu.edu.cn

糠醛衍生物,从而使得酸性多糖中糖含量的测定值低于其实际值。因此,本课题组拟建立一种能准确测定类似于党参多糖 CPP1b 的含 GalA 的多糖中糖含量的方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

UV-1700 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);CPA225D 型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

### 1.2 药品与试剂

Glc 对照品(批号:110833-201205)、GalA 对照品(批号:111646-200301)、Rha 对照品(批号:111683-200401)、Ara 对照品(批号:111506-200001)、Gal 对照品(批号:100226-201105)均购自中国食品药品检定研究院(纯度均>98%);党参多糖 CPP1b(我校实验室自制,批号:20150403,纯度:98.67%,GalA 含量:83.39%);苯酚(分析纯,上海沪宇生物科技有限公司);硫酸(分析纯,白银良友化学试剂有限公司);试验用水为自制蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

Glc 对照品溶液:精密称取 2.55 mg 经 105 °C 干燥的 Glc 对照品,用水定容于 25 mL 量瓶中,得质量浓度为 0.102 mg/mL 的 Glc 对照品溶液,4 °C 保存备用。

GalA 对照品溶液:精密称取 2.52 mg 的 GalA 对照品,用水定容于 25 mL 量瓶中,得质量浓度为 0.101 mg/mL 的 GalA 对照品溶液,4 °C 保存备用。

党参多糖 CPP1b 供试品溶液:精密称取 1.00 mg 党参多糖 CPP1b 样品,用水定容于 10 mL 量瓶中,得质量浓度为 0.100 mg/mL 的党参多糖 CPP1b 供试品溶液,4 °C 保存备用。

### 2.2 苯酚-硫酸法测定条件的优化

2.2.1 标准曲线的绘制 分别精密量取“2.1”项下 Glc 对照品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.5、0.6、0.8、1.0 mL 于试管中,加水补至 2.0 mL,加入 5% 苯酚溶液(取 5.07 g 重蒸苯酚,用水定容于 100 mL 量瓶中)1 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 5 mL,摇匀后于 100 °C 反应 30 min,取出,冷却至室温,于 490 nm 波长处测定吸光度。以糠醛衍生物吸光度(y)为纵坐标、Glc 质量浓度(x, mg/mL)为横坐标进行线性回归,得回归方程  $y=27.24x+0.0098$  ( $r=0.9974$ )。结果表明, Glc 检测质量浓度线性范围为 0~0.136 mg/mL。

2.2.2 反应温度的优化 分别精密量取“2.1”项下党参多糖 CPP1b 供试品溶液、Glc 对照品溶液、GalA 对照品溶液各 0.5 mL 于试管中,加水补至 2.0 mL,按“2.2.1”项下苯酚-硫酸法操作,于反应时间(15 min)不变的条件下,测定 3 种物质在不同反应温度(25、40、60、80、100 °C)条件下的糖含量,由此考察反应温度对试验结果的影响(详见表 1)。由表 1 可知,在相同反应时间条件

下,随着反应温度的升高,所测得的 Glc 对照品的糖含量基本不变,而所测得的 GalA 对照品及党参多糖 CPP1b 的糖含量均有一定程度提高,于 100 °C 条件下达到最大值。因此,选择 100 °C 作为本试验的反应温度。

表 1 不同反应温度对试验结果的影响( $n=3$ )

Tab 1 Effects of different reaction temperatures on the results of the test( $n=3$ )

物质	不同反应温度条件下的糖含量, %				
	25 °C	40 °C	60 °C	80 °C	100 °C
Glc	99.21	99.38	99.55	99.00	99.20
GalA	26.17	28.19	28.63	30.01	31.04
党参多糖 CPP1b	25.27	27.46	27.89	29.42	30.96

2.2.3 反应时间的优化 分别精密量取“2.1”项下党参多糖 CPP1b 供试品溶液、Glc 对照品溶液、GalA 对照品溶液各 0.5 mL 于试管中,加水补至 2.0 mL,按“2.2.1”项下苯酚-硫酸法操作,于最佳反应温度(100 °C)条件下,测定 3 种物质在不同反应时间(15、20、30 min)条件下的糖含量,由此考察反应时间对试验结果的影响(详见表 2)。由表 2 可知,在最佳反应温度条件下,随着反应时间的延长,所测得的 Glc 对照品的糖含量先升高后下降,而所测得的 GalA 对照品及党参多糖 CPP1b 的糖含量均有一定程度提高,于 30 min 条件下达到最大值。因此,选择 30 min 作为本试验的反应时间。

表 2 不同反应时间对试验结果的影响( $n=3$ )

Tab 2 Effects of different reaction times on the results of the test( $n=3$ )

物质	不同反应时间条件下的糖含量, %		
	15 min	20 min	30 min
Glc	99.20	101.12	99.14
GalA	31.04	31.98	33.44
党参多糖 CPP1b	30.96	31.03	32.82

### 2.3 以不同质量比的 GalA-Glc 混合对照品溶液绘制系列标准曲线并测定样品中的糖含量

根据党参多糖 CPP1b 单糖组成及比例分析可知,其中 GalA 含量最高,为 83.39%,因此本试验尝试以不同质量比的 GalA-Glc 混合对照品溶液绘制系列标准曲线,在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下,测定党参多糖 CPP1b 样品中的糖含量。

2.3.1 不同质量比的 GalA-Glc 混合对照品溶液的制备 分别精密量取“2.1”项下 GalA 对照品溶液和 Glc 对照品溶液各适量,将二者按不同质量比混合,分别配制成 GalA-Glc 质量比为 100%-0、90%-10%、80%-20%、70%-30%、60%-40%、50%-50%、40%-60%、30%-70%、20%-80%、0-100% 的系列溶液,4 °C 保存备用。

2.3.2 系列标准曲线的绘制及样品中糖含量的测定 在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下(反应温度为 100 °C,反应时间为 30 min),以“2.3.1”项下不同质量比的 GalA-Glc 系列混合对照品溶液,按“2.2.1”项下苯酚-硫酸法操作,分别绘制标准曲线(详见表 3),并在相同试验条件下,分别于 490 nm 波长处对党参多糖 CPP1b 样品中

的糖含量进行测定(详见表4)。

表3 不同质量比的GalA-Glc混合对照品溶液的回归方程和线性范围

Tab 3 Regression equations and linear ranges of GalA-Glc mixed control with different mass ratios

GalA-Glc 质量比	回归方程	r	线性范围,mg/mL
100%-0	$y=7.84x+0.0025$	0.9958	0~0.108
90%-10%	$y=9.36x+0.0001$	0.9929	0~0.101
80%-20%	$y=11.52x+0.0001$	0.9992	0~0.101
70%-30%	$y=14.01x+0.0108$	0.9929	0~0.117
60%-40%	$y=15.84x+0.0016$	0.9948	0~0.101
50%-50%	$y=18.64x+0.0020$	0.9993	0~0.102
40%-60%	$y=20.40x+0.0011$	0.9922	0~0.102
30%-70%	$y=23.36x+0.0013$	0.9931	0~0.103
20%-80%	$y=24.56x+0.0015$	0.9901	0~0.103
0-100%	$y=27.60x+0.0016$	0.9975	0~0.136

表4 根据不同质量比的GalA-Glc混合对照品溶液的回归方程测得的样品中的糖含量(n=3,%)

Tab 4 Results of content determination of saccharide in samples according to regression equation of GalA-Glc mixed control with different mass ratios(n=3,%)

GalA-Glc 质量比	糖含量		
	GalA	Glc	党参多糖 CPP1b
100%-0	98.65	325.25	87.85
90%-10%	72.36	250.80	70.36
80%-20%	68.76	219.91	60.85
70%-30%	60.84	190.29	48.07
60%-40%	44.38	188.76	41.87
50%-50%	43.15	157.31	38.54
40%-60%	41.66	148.45	35.37
30%-70%	40.46	129.46	33.76
20%-80%	38.41	123.22	32.26
0-100%	33.29	99.21	30.24

由表3及表4可知, GalA-Glc混合对照品溶液的质量比不同时, 所得回归方程的斜率有所不同, 党参多糖CPP1b样品中糖含量的测定结果也不同。随着GalA-Glc混合对照品溶液中GalA质量的增加, 回归方程的斜率减小, 所测党参多糖CPP1b样品中的糖含量呈增加趋势。其中, 当以质量比为0-100%的GalA-Glc混合对照品溶液绘制标准曲线时, 所测党参多糖CPP1b样品中的糖含量最低, 为30.24%; 当以质量比为100%-0的GalA-Glc混合对照品溶液绘制标准曲线时, 所测党参多糖CPP1b样品中的糖含量最高, 为87.85%。由此可以推断, 以GalA-Glc混合对照品溶液绘制标准曲线并测定党参多糖CPP1b样品中的糖含量, 其结果与实际值存在一定的偏差。

#### 2.4 校正因子计算及样品中糖含量测定结果的校正

由表4可知, 以不同质量比的GalA-Glc混合对照品制备系列标准曲线, 其测定值与实际值均存在一定的误差, 无法准确计算党参多糖CPP1b样品中的糖含量, 因此本试验引入校正因子计算样品的糖含量。以中性单糖(本试验为Glc)为对照品绘制标准曲线, 以党参多糖

CPP1b为参照多糖计算校正因子, 对样品中的糖含量测定结果进行校正。

精密量取“2.1”项下党参多糖CPP1b供试品溶液(质量浓度0.100 mg/mL)0.5 mL于试管中, 加水至2.0 mL, 平行制备3份, 在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下, 按“2.2.1”项下方法, 自“加入5%苯酚溶液”起进行余下操作, 测定吸光度, 根据表3中GalA-Glc质量比为0-100%时的回归方程计算党参多糖CPP1b的质量浓度(c), 并按下式计算校正因子(f):

$$f = W/c \cdot D \dots\dots\dots (1)$$

其中, W为称取的党参多糖CPP1b质量(mg); c为测得的党参多糖CPP1b的质量浓度(mg/mL); D为党参多糖CPP1b的稀释倍数。经计算, 党参多糖CPP1b对Glc的校正因子为3.33(n=3)。进而按下式校正和计算样品中的糖含量:

$$\text{糖含量}(\%) = (c \cdot D \cdot f) / W \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

经校正和计算, 党参多糖CPP1b样品中的糖含量为99.31%(RSD=0.55%, n=3)。

#### 2.5 对苯酚-硫酸法结合校正因子法合理性的验证

本试验以与党参多糖CPP1b组成相同的混合单糖对照品对苯酚-硫酸法结合校正因子法的合理性进行验证。

与党参多糖CPP1b组成相同的混合单糖对照品的制备: 根据党参多糖CPP1b的单糖组成及比例, 分别精密称取Rha、Ara、Gal、GalA 0.83、0.40、0.43、8.34 mg, 用水定容于同一100 mL量瓶中, 即得总质量浓度为0.1 mg/mL的混合单糖对照品溶液。

精密量取上述混合单糖对照品溶液0.5 mL于试管中, 加水补至2.0 mL, 平行制备3份, 在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下, 按“2.2.1”项下方法, 自“加入5%苯酚溶液”起进行余下操作, 测定吸光度, 根据表3中GalA-Glc质量比为0-100%时的回归方程计算党参多糖CPP1b的质量浓度(c), 并按“2.4”项下公式(2)计算其糖含量, 结果为103.47%(RSD=0.50%, n=3)。表明上述苯酚-硫酸法结合校正因子法具有合理性。

#### 2.6 方法学考察

2.6.1 精密度试验 精密量取“2.1”项下党参多糖CPP1b供试品溶液(质量浓度0.100 mg/mL)0.5 mL于试管中, 加水补至2.0 mL, 平行制备6份, 在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下, 按“2.2.1”项下方法, 自“加入5%苯酚溶液”起进行余下操作, 测定吸光度。结果, 其吸光度的RSD=0.21%(n=6), 表明本方法精密度良好。

2.6.2 稳定性试验 精密量取党参多糖CPP1b供试品溶液(0.100 mg/mL)0.5 mL于试管中, 加水补至2.0 mL, 在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下, 按“2.2.1”项下方法, 自“加入5%苯酚溶液”起进行余下操作, 分别于室温放置0、0.5、1、2、3、4 h时测定吸光度。结果, 其吸光度的RSD=0.52%(n=6), 表明供试品溶液在室温放置4 h内

稳定性良好。

2.6.3 加样回收率试验 精密量取党参多糖 CPP1b 供试品溶液 (0.100 mg/mL) 0.5 mL 于试管中, 加入“2.1”项下 GalA 对照品溶液 (0.101 mg/mL) 0.5 mL, 加水补至 2.0 mL, 在经优化的苯酚-硫酸法测定条件下, 按“2.2.1”项下方法, 自“加入 5% 苯酚溶液”起进行余下操作, 测定吸光度, 根据表 3 中 GalA-Glc 质量比为 0-100% 时的回归方程, 按照公式(2)加校正因子计算糖含量, 并计算加样回收率, 结果见表 5。

表 5 加样回收率试验结果 (n=6)

Tab 5 Results of recovery tests (n=6)

取样量, $\mu\text{g}$	加入量, $\mu\text{g}$	测得量, $\mu\text{g}$	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
50	50.5	101.81	102.59		
50	50.5	104.21	107.35		
50	50.5	103.33	105.60		
50	50.5	97.23	93.52	102.01	5.09
50	50.5	99.87	98.75		
50	50.5	102.65	104.26		

### 3 讨论

苯酚-硫酸法测定糖含量的原理是: 多糖或寡糖被浓硫酸水合产生的高温迅速水解, 产生单糖并迅速脱水形成糠醛衍生物, 该衍生物在强酸条件下与苯酚起显色反应, 生成橙黄色物质, 且该衍生物在 490 nm 波长处的吸光度值与其质量浓度在一定范围内呈线性关系, 从而可用光电比色法测定其含量<sup>[8]</sup>。其中, 在形成糠醛衍生物的反应中, 五碳糖和甲基五碳糖较六碳糖容易发生反应; 而糖醛酸则需先脱羧, 再形成糠醛衍生物<sup>[7]</sup>, 且糖醛酸不能完全转化成糠醛衍生物<sup>[8]</sup>。其原理如图 1 所示。

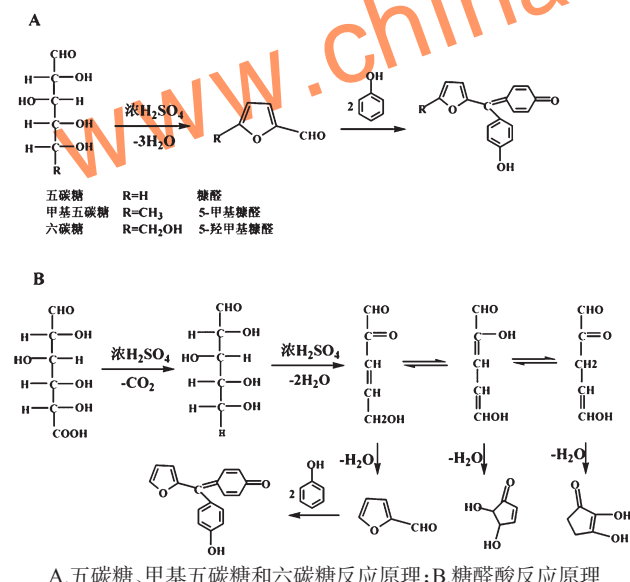


图 1 苯酚-硫酸法测定糖含量的原理

Fig 1 Principle of phenol-sulfuric acid method

党参多糖 CPP1b 纯度为 98.67%, 糖含量为 30.96%, 分子量为  $1.45 \times 10^5$  Da, 单糖组成及质量比为: Rha: Ara:

Gal: GalA = 0.25: 0.12: 0.13: 2.51, 其基本的糖链接单元如图 2 所示。

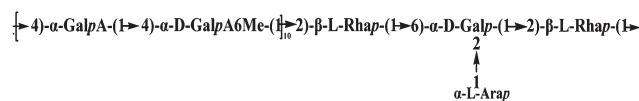


图 2 党参多糖 CPP1b 基本的糖链接单元

Fig 2 Sugar link unit of *C. pilosula* polysaccharides CPP1b

而采用苯酚-硫酸法, 单纯以某一中中性单糖 (Glc) 为对照品测定类似于党参多糖 CPP1b 的含 GalA 的酸性杂多糖中的总糖含量时, 因 GalA 与中性单糖在测定过程中的吸光系数不同, 其测定值与实际值必然会在一定的偏差。考虑到 GalA 在形成糠醛衍生物前需要先脱羧且不能完全转化成糠醛衍生物, 故采用苯酚-硫酸法以 Glc 为对照品测定党参多糖 CPP1b 中的糖含量时测定值会较实际值偏低。基于此, 本试验结合采用了校正因子法<sup>[9-11]</sup>, 通过计算党参多糖 CPP1b 对 Glc 的校正因子, 对样品中的糖含量测定结果进行校正, 避免了以 Glc 作为对照品所引起的系统误差, 且绘制标准曲线简便, 结果较准确、可靠。

综上所述, 本试验建立了一种基于苯酚-硫酸法结合校正因子法的可快速、准确测定含 GalA 的多糖中糖含量的方法。验证试验结果表明方法合理, 糖含量测定值与实际值很接近; 方法学考察结果表明本方法精密、准确度和稳定性均较好。这种求算校正因子的思路适用于大多数含不同比例糖醛酸的样品, 但不同的样品校正因子需要视具体情况进行调整。

### 参考文献

- [1] Xin T, Zhang F, Jiang Q, *et al.* The inhibitory effect of a polysaccharide from *codonopsis pilosula* on tumor growth and metastasis in vitro[J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51(5): 788-793.
- [2] He JY, Ma N, Zhu S, *et al.* The genus *codonopsis* (campanulaceae): a review of phytochemistry, bioactivity and quality control[J]. *J Nat Med*, 2015, 69(1): 1-21.
- [3] Zou YF, Chen XF, Malterud KE, *et al.* Structural features and complement fixing activity of polysaccharides from *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* L.T. Shen roots[J]. *Carbohydr Polym*, 2014(113): 420-429.
- [4] Yang C, Gou Y, Chen J, *et al.* Structural characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula*[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(1): 886-895.
- [5] 杨鸿玲, 李淑芬, 贾冬冬. 桑叶多糖中糖醛酸和中性糖含量测定方法的建立[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(2): 301-304.
- [6] 吴立军. 天然药物化学[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 86-87.
- [7] Bornik MA, Kroh LW. D-galacturonic acid as a highly re-

# 葛花配方颗粒的UPLC指纹图谱研究<sup>Δ</sup>

刘梦云<sup>1\*</sup>, 江洁怡<sup>2</sup>, 毕晓黎<sup>1,2#</sup>, 李素梅<sup>2</sup>, 李养学<sup>2</sup> (1.广州中医药大学研究生院, 广州 510405; 2.广东省中医药工程技术研究院/广东省中医药研究开发重点实验室/中药配方颗粒生产关键技术重点实验室, 广州 510095)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2978-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.27

**摘要** 目的:建立葛花配方颗粒的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱。方法:采用UPLC法。色谱柱为Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为0.5 mL/min,检测波长为264 nm,柱温为25 ℃,进样体积为1 μL。以鳶尾苷元为参照物,测定10批葛花配方颗粒的UPLC图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)进行共有峰指认和相似度评价。结果:10批葛花配方颗粒的UPLC图谱有14个共有峰,相似度均>0.90。经验证,10批样品UPLC图谱与对照指纹图谱具有较好的一致性。结论:该研究所建UPLC指纹图谱可为葛花配方颗粒的鉴别和质量评价提供参考。

**关键词** 葛花配方颗粒;超高效液相色谱法;指纹图谱;鳶尾苷元

## Study on UPLC Fingerprint of Gehua Formula Granules

LIU Mengyun<sup>1</sup>, JIANG Jieyi<sup>2</sup>, BI Xiaoli<sup>1,2</sup>, LI Sumei<sup>2</sup>, LI Yangxue<sup>2</sup> (1.School of Graduate, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China; 2.Guangdong Engineering Technology Research Institute of TCM/Guangdong Key Laboratory of TCM Research and Development/Key Laboratory of Key Production Technology for TCM Formula Granule, Guangzhou 510095, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish UPLC fingerprint of Gehua formula granules. METHODS: UPLC method were adopted. The determination was performed on Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water at the flow rate of 0.5 mL/min. The detection wavelength was set at 264 nm, column temperature was 25 ℃, and the sample size was 1 μL. Using tectorigenin as reference substance, UPLC chromatograms of 10 batches of Gehua formula granules were determined. The common peak identification and similarity evaluation were conducted by TCM Chromatogram Fingerprint Similarity Evaluation System (2004 A edition). RESULTS: 14 common peaks were identified in UPLC chromatograms of 10 batches of Gehua formula granules and similarities were all higher than 0.90. UPLC chromatograms of 10 batches of samples were in good agreement with control fingerprint. CONCLUSIONS: Established UPLC fingerprint can provide reference for identification and quality evaluation of Gehua formula granules.

**KEYWORDS** Gehua formula granules; UPLC; Fingerprint; Tectorigenin

葛花为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *P. thomsonii* Benth. 的干燥花, 别名葛条花, 始载于《神农本草经》。现代中医认为, 葛花味甘、性凉、归脾胃经, 具有解酒醒脾、解肌退热、生津止渴、上泻治痢之功效<sup>[1-2]</sup>。葛花配方颗粒是由葛花饮片经提取、浓缩、

干燥、制粒等现代制备工艺方法制成的一种新型制剂, 具有免煎易服、易储存、携带方便等优点, 但同时也失去了饮片原有的生物形态特征<sup>[3]</sup>。因此, 只凭借单一指标成分已无法说明中药多组分、多靶点协同作用的特点, 而且也无法进行饮片真伪定性的鉴别和质量优劣的评

- active compound in nonenzymatic browning. 1. Formation of browning active degradation products[J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(14): 3494-3500.
- [8] 郭志烨, 韩丽, 杨明, 等. 中药多糖定量测定方法的探讨[J]. *中成药*, 2014, 36(10): 2172-2176.

- [9] 王艳, 茹仙古丽·哈斯木, 韩艳春, 等. 苯酚-硫酸法测定维吾尔药核桃分心木多糖的含量[J]. *亚太传统医药*, 2012, 8(2): 35-37.
- [10] 王文成. 茶多糖含量测定的干扰因素分析[J]. *粮食科技与经济*, 2011, 36(4): 43-44, 47.
- [11] 于孟琦, 孙磊, 乔善义. 牡丹皮多糖的含量测定[J]. *国际药学研究杂志*, 2010, 37(2): 130-132.

Δ 基金项目: 广东省省级科技计划项目(No. 2015B070701010)  
\* 硕士研究生。研究方向: 中药制剂分析。E-mail: liumengyun218@163.com

# 通信作者: 主任中药师, 硕士生导师, 博士后。研究方向: 中药质量评价。电话: 020-83501292。E-mail: 2335128654@qq.com

(收稿日期: 2016-07-31 修回日期: 2017-06-15)  
(编辑: 周 箐)