

个重要因素, 本文选用的酸性纤维素酶的最佳 pH 值范围是 4.15~5.15, 果胶酶的最佳 pH 值范围在 3.10~4.15 之间, 胃蛋白酶最适 pH 值为 2.10 左右, pH 值过低或过高时酶的活性都不能达到最高, 甚至失活而使多糖率下降, 综合以上因素, 最佳 pH 值为 5.10 左右。

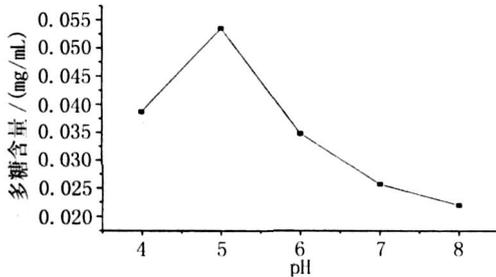


图 4 pH 值对多糖提取量的影响

3 讨论

由天冬多糖的几种提取方法结果比较可知, 选用超声与复合酶酶解方法有效结合可以使天冬多糖的得率较高, 工艺简单, 提取时间短, 而且绿色环保。

通过方法比较, 可以看出单一的纤维素酶法比单一的果胶酶法和蛋白酶法提取率高, 由于植物细胞壁主要是由纤维素组成, 是阻碍有效成分溶出的主要天然屏障; 果胶酶和蛋白酶可以将果胶质和蛋白质水解, 使多糖产率适当的增加; 3 种酶的共同作用, 对多糖成分的溶出有较大的促进作用。超声波

法是在适当的条件下, 利用超声波的空化作用引起的湍动效应、微波效应、界面效应和聚能效应等, 产生的强大剪切力能使植物细胞壁破裂, 使细胞更容易释放内容物, 而微波效应促进溶剂进入提取物细胞, 加速成分进入溶剂, 所以实验将超声法和复合酶法结合起来进行工艺条件选择¹⁶²。实验得到超声复合酶的最佳工艺条件为: 液料比 75B2, 超声时间 90 min, 超声功率 83W, pH 值 5.10。

参 考 文 献

- [1] 卫生部药典委员会 1 中华人民共和国药典 [S] 1 一部 1 北京: 化学工业出版社, 2000: 421
- [2] 李敏, 费曜, 王家葵 1 天冬药材药理实验研究 [J] 1 时珍国医国药, 2005, 16(7): 58025821
- [3] 周林, 李元波, 曾英 1 超声复合酶法提取三七皂苷的研究 [J] 1 中成药, 2006, 28(5): 64226451
- [4] 吴灵静, 马灵芝, 施猛 1 不同产地的天冬药材中多糖含量的比较研究 [J] 1 中国药业, 2004, 13(2): 502511
- [5] Apama Shama M1 N1 Gupta1 Ultrasonic preirradiation effect upon aqueous enzymatic oliextraction from almond and apricot seeds [J] 1 Ultrasonics Sonochemistry, 2006, (13): 52925341
- [6] 冯年平, 郁威 1 中药提取分离技术原理与应用 [M] 1 北京: 中国医药科学出版社, 2004: 33523361

秦艽中龙胆苦苷提取工艺研究

张兴旺^{1,2}, 牛迎风^{1,2}, 陶燕铎^{*}, 邵 赞¹

(11 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008 21 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 目的: 优选出秦艽中龙胆苦苷的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验法, 考察溶剂浓度、溶剂用量、提取时间、提取次数对龙胆苦苷提取率的影响, 采用高效液相色谱法测定其含量。结果: 所考察的因素中, 对秦艽中龙胆苦苷提取率的影响程度为: 提取次数 > 溶剂浓度 > 溶剂用量 > 提取时间; 最佳工艺为: 用 10 倍量 70% 的乙醇提取 3 次, 每次 11.5 h。结论: 本提取工艺可行, 可为充分利用秦艽资源提供参考。

关键词 秦艽; 龙胆苦苷; 提取工艺

中图分类号: R2841.2 文献标识码: A 文章编号: 100124454(2009)0420625203

秦艽为龙胆科植物秦艽 (*Gentiana macrophylla* Pall.)、麻花秦艽 (*G. straminea* Maxim.)、粗茎秦艽 (*G. crassicaulis* Duthie ex Burkl) 或小秦艽 (*G. dahurica* Fischl) 的干燥根^{1,2}, 主产于青海、甘

肃、陕西、内蒙古、四川等地¹²²。中药秦艽有祛风湿、清湿热、止痹痛、行气消胀等功效¹¹², 秦艽中含有大量龙胆苦苷等裂环烯醚萜苷, 为其苦味成分¹³²。近年来的研究表明, 该类成分具有保肝、益

收稿日期: 2008209217

基金项目: 国家科技攻关项目 (0713351611)

作者简介: 张兴旺 (1982), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 天然药物化学; Tel 15897142634 E-mail zwx324@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 陶燕铎, 研究员, 硕士生导师, Tel 097126117264 E-mail tyd@mw.pbl.ac.cn

肝、抗炎镇痛等活性^{14,52}。为了合理利用和保护麻花秦艽资源,最大限度地提取其有效成分,本实验选定乙醇浓度、溶剂用量、提取时间、提取次数为考察因素,以龙胆苦苷的提取率为评价指标,利用正交试验 $L_9(3^4)$ 筛选乙醇提取麻花秦艽中龙胆苦苷的最佳工艺条件,为充分利用该药材资源提供参考依据。

1 仪器、试剂与材料

111 仪器 Waters 2996 DAD 检测器; Waters 515 高效液相色谱输液泵; Waters Empower 色谱工作站; Waters 色谱柱恒温箱; 电子分析天平; RE252 旋转蒸发仪; DZKW C 型电子恒温水浴锅。

112 试剂 龙胆苦苷对照品(购自中国药品生物制品检定所,批号为 110770200308); 甲醇为色谱纯; 新鲜娃哈哈纯净水; 工业酒精。

113 材料 秦艽药材于 2008 年 9 月采自青海大通县宝库乡,经中国科学院西北高原生物研究所梅丽娟高级工程师鉴定为麻花秦艽 (*Gentiana straminea* Maximl)。

2 方法与结果

211 色谱条件 C_{18} 柱 (250 mm @4.6 mm, 5 μ m); 柱温: 30℃; 灵敏度: 210AUFS; 流动相: 甲醇:水 = 1:2; 流速: 1.0 mL/min; 测定波长: 270 nm; 进样量: 10 μ L。

212 样品的提取 根据预实验结果,选定乙醇浓度、乙醇用量、提取时间、提取次数为 4 个考察因素,每个因素分 3 个水平,以龙胆苦苷含量为考察指标,因素、水平见表 1。

表 1 因素水平表

水平	乙醇浓度 A/%	乙醇用量 B/倍	提取时间 C/h	提取次数 D/次
1	50	8	1	1
2	60	10	1.5	2
3	70	12	2	3

213 对照品溶液的制备 精密称取龙胆苦苷对照品 115 mg 置 10 mL 容量瓶中,加适量甲醇使之溶解并稀释至刻度,摇匀,得浓度为 0.115 mg/mL 的对照品溶液备用。

214 供试品溶液的制备 将阴干的麻花秦艽(根)粉末称取 10 g 用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验(见表 2),回流提取,过滤,将滤液在旋转蒸发仪上蒸干,干浸膏用甲醇超声溶解,转移到 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容,再精密吸取 1 mL 转移至 50 mL 容量瓶中用甲醇定容,作为供试液。

215 标准曲线的制备 精密吸取龙胆苦苷对照品溶液 6、8、10、12、14 μ L,在 2110 项色谱条件下依次

进样,以进样量(X)横坐标,峰面积(Y)为纵坐标得回归方程: $Y = 49724.70X - 963401.8$, $r = 0.9991$ 。结果表明龙胆苦苷在 0.19~2.11 μ g 范围内成良好的线性关系。

216 正交试验及结果 取样品溶液,过直径为 0.45 μ m 的微孔滤膜,分别进样 10 μ L,结果见表 2。由表 2 知影响因素的大小顺序为 $D > A > B > C$,最佳提取工艺是 $A_3B_2C_2D_3$,即用 10 倍量 70% 的乙醇,提取 3 次,每次 11.5 μ L。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验表及结果

试验号	A	B	C	D	龙胆苦苷提取率/%
1	1	1	1	1	51.01
2	1	2	2	2	61.24
3	1	3	3	3	61.58
4	2	1	2	3	61.89
5	2	2	3	1	51.78
6	2	3	1	2	61.40
7	3	1	3	2	61.79
8	3	2	1	3	71.94
9	3	3	2	1	61.32
K_1	171.83	181.68	191.35	171.12	
K_2	191.08	191.97	191.45	191.43	
K_3	211.05	191.30	191.15	211.42	
R	31.22	11.29	0.130	41.30	

217 方差分析 方差分析结果见表 3。表 3 表明乙醇浓度(A)、提取次数(D)对提取率有极显著影响。

表 3 方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	11.758	2	0.1879	1131.046	< 0.01
B	0.269	2	0.134	171.290	> 0.05
C	0.016	2	0.008	1	2
D	31.088	2	11.544	1981.520	< 0.01

注: $F_{0.05}(2, 2) = 191.00$, $F_{0.01}(2, 2) = 991.00$

218 验证试验 为了保证提取工艺的重现性和可行性,对优选的方案进行验证试验,结果龙胆苦苷的平均提取率为 71.67%, RSD 为 11.37% ($n = 3$),可见该工艺稳定可行,重现性好。

3 讨论

311 中药提取工艺条件的筛选,评价指标的选择十分关键。龙胆苦苷是秦艽的主要有效成分,也是秦艽药材质量的重要标准,药理研究表明龙胆苦苷对化学性及免疫性肝损伤具有保护作用¹⁶²,此外还有利胆、健胃、抗炎、升血糖等活性¹⁴²。本实验以龙胆苦苷的提取率为评价指标,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优选的最佳工艺为:用 10 倍量 70% 的乙醇提取 3

次,每次 115 h 经验证条件可行,可为有效利用秦艽药材资源和工业生产提供参考。

312 提取龙胆苦苷样品时,要尽可能远离有 NH_3 的环境。特别是龙胆苦苷的水溶液更应远离 NH_3 , 因为有 NH_3 和 H_2O 存在时,龙胆苦苷极易转化为秦艽甲素^{1,2}。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会 1 中华人民共和国药典 [S]1 一部 1 北京:化学工业出版社,2005
[2] 中华人民共和国卫生部药政管理局 1 现代实用本草 [M]1 北京:人民卫生出版社,1997: 5791

- [3] 刘艳红,李兴从,刘玉清,等 1 秦艽中的环烯醚萜苷成分 [J]1 云南植物研究,1994,16(1): 852891
[4] 张勇,蒋家雄,李文明 1 龙胆苦苷药理研究进展 [J]1 云南医药,1991,12(5): 30423061
[5] 徐丽华,徐强 1 龙胆对实验性肝损伤的影响 [J]1 中药药理与临床,1994,10(3): 202221
[6] 李艳秋,赵德化,潘伯荣 1 龙胆苦苷抗鼠肝损伤的作用 [J]1 第四军医大学学报,2001,22(18): 1645216491
[7] Bl Baghdikian, El Ollivier, R1 Faure, et all Two new pyridine monoterpene alkaloids by chemical conversion of a commercial extract of *Harpagophytum procumbens* [J]1 J Nat Prod, 1999, 62 21122131

通塞脉微丸低极性成分的 GC/MS 分析

李伟东^{1,2}, 姚海峰¹, 蔡宝昌^{1,2*}

(11 南京中医药大学,江苏 南京 210029, 21 江苏省中药炮制重点实验室,江苏 南京 210029)

摘要 目的:对通塞脉微丸低极性成分进行 GC/MS 分析。方法:以 GC/MS 结合保留时间鉴定低极性成分,采用面积归一化法测定它们在样品中的相对含量。结果:微丸中 50 多种成分被分离,36 种成分被鉴定。结论:通塞脉微丸的制备工艺是合理的,能较好地保留对脑中风有治疗作用的物质基础))) 当归超临界萃取物。

关键词 通塞脉微丸;低极性成分;GC/MS 分析

中图分类号: R286102 文献标识码: A 文章编号: 100124454(2009)0420627203

通塞脉微丸是由黄芪、当归、金银花、玄参、石斛、甘草等多种中药组成的现代复方制剂,具有清热养阴、活血化瘀的功效,用于血栓闭塞性脉管炎、静脉血栓形成、动脉硬化闭塞症、脑血栓形成及其后遗症等^{1,12}。为了全面研究通塞脉微丸的化学成分,本实验运用 GC/MS 联用技术对其低极性组分进行分析研究,旨在进一步揭示其药效物质基础。

1 材料与仪器

111 药品 通塞脉微丸(批号:031016),由南京中医药大学药业公司提供。

112 仪器 HP26890GC/5973N MS 气质联用系统(美国安捷伦公司)。

2 方法与结果

211 样品制备 取通塞脉微丸 0.15 g 加入蒸馏水 20 mL 超声提取 30 min 等量乙醚萃取 5 次,合并乙醚萃取液,挥干乙醚,正己烷溶解定容至 10 mL,供 GC/MS 分析用。

212 测试条件

21211 色谱条件:色谱柱 HP21 Methyl Silbaxan_e 柱长:17 m,液膜厚度:0.10 μm,内径:0.12 mm;载气:He 流速:0.18 mL/min;柱温:程序升温 70~260℃ (8℃/min),恒温 25 min;柱前压:8218 kPa 进样量 2 μL。

21212 质谱条件:分流模式进样,分流比 50B1;进样口温度:200℃,辅助线温度:280℃,离子源温度:230℃,四极杆:150e;电离方式:EI 电子能量:70 eV,电子倍增管电压:1482 kV,溶剂延迟时间为 2 min;采集方式:扫描;扫描质量范围:50~550 amu。

213 结果 按上述测试条件进行了 GC/MS 分析,对每个色谱峰的化合物给出特定的 MS 峰,经计算机贮存信号的检索及质谱图进行解析确定化合物,并用峰面积归一法测定各成分相对百分含量,成分鉴定结果见表 1。

收稿日期:2008210221

基金项目:国家 863 重大研究计划项目(2003AA2Z3247);江苏省科技厅科技攻关重大项目(BK2001209)

作者简介:李伟东(19692),男,博士,副研究员,硕士生导师,研究方向:中药复方化学研究、中药炮制及中药质量控制。

* 通讯作者:蔡宝昌, Tel 025285811934 E2ma il becca@1261 com。