

黄酮类成分为双氢杨梅树皮素,故本实验采用双氢杨梅树皮素为指标来测定藤茶药材中黄酮类成分的含量

3.2 藤茶样品中含有较多叶绿素,有报道^[8]用石油醚除去其叶绿素后,加入 AlCl_3 溶液,直接在双氢杨梅树皮素与 AlCl_3 络合物的最大吸收波长下测定藤茶样品中黄酮类成分的含量。但我们在实验中发现,用石油醚提取虽可除去大部分叶绿素,但仍存在背景吸收,直接用普通分光光度法测定往往会使测得值偏高。本实验采用差示分光光度法,利用藤茶样品溶液中黄酮类成分与 $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 络合后,在 (318 ± 1) nm 波长下吸光度值发生显著变化,所测得的络合前后的吸光度差值与藤茶中黄酮类成分在一定浓度范围内呈线性关系 $(4.576 - 22.88 \mu\text{g}/\text{mL})$,而样品中共存的其它组分如叶绿素等由于在此波长下不发生吸收性质改变,因而对测定无影响,可较好解决背景吸收的问题。而且,实验表明采用差示分光光度法测定尚可省略除叶绿素这一步骤,因而使测定方法更加简便

3.3 双氢杨梅树皮素与 $2\% \text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 形成的

络合物在 95% 乙醇中稳定,但在水中很不稳定,故本实验采用 95% 乙醇作溶剂测定。

3.4 络合剂 $2\% \text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 必须用甲醇配制,因 $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 在乙醇中溶解度较小。由于水对络合物的稳定性有影响,因此在溶液配制过程中应避免用水作溶剂。

参考文献:

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(下册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978.
- [2] 广西医药研究所. 广西药用植物名录 [M]. 南宁: 广西民族出版社, 1974.
- [3] 覃洁萍, 许学健, 李剑江. 广西瑶族藤茶化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(4): 41-43.
- [4] 覃洁萍, 许学健, 董明娇. 广西藤茶中黄酮类成分的提取工艺研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2000, 17(3): 196-197.
- [5] 周天达, 周雪仙. 藤茶中双氢黄酮醇的分离、结构鉴定及药理活性 [J]. 中国药理学杂志, 1996, 31(8): 458-461.
- [6] 钟正贤, 覃洁萍, 周桂芬, 等. 广西瑶族藤茶中双氢杨梅树皮素的药理研究 [J]. 中国民族医药杂志, 1998, 7(3): 42.
- [7] 覃洁萍, 钟正贤, 周桂芬, 等. 双氢杨梅树皮素降血糖的实验研究 [J]. 中国现代应用药学, 2001, 18(5): 351-352.
- [8] 何桂霞, 何群, 裴刚, 等. 瑶族藤茶中总黄酮类成分的含量测定 [J]. 湖南中医药导报, 1999, 5(12): 30-31.
- [9] 覃洁萍, 莫可丰, 何翠薇, 等. 藤茶素胶囊中 2 种主要活性成分的 RP-HPLC 定量分析方法研究 [J]. 药物分析杂志, 2002, 22(1): 30-32.

何首乌中二苯乙烯苷提取工艺优选及炮制对其含量的影响

戚爱棣*

(天津中医学院 中药系, 天津 300193)

摘要: 目的 优选何首乌中二苯乙烯苷的提取工艺, 比较何首乌炮制前后二苯乙烯苷的含量。方法 采用正交试验法, 通过 HPLC 测定提取液中二苯乙烯苷的含量。结果 何首乌中二苯乙烯苷的最佳提取工艺为: 用 6.0 倍药材量的 50% 乙醇加热回流 30 min, 何首乌炮制前后二苯乙烯苷的含量相差 2~3 倍。结论 正交设计中的乙醇浓度因素影响显著, 何首乌炮制前后二苯乙烯苷的含量差异显著。

关键词: 何首乌; 二苯乙烯苷; 正交试验; 炮制

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)07-0609-03

Optimum for extract processing of stilbene glucoside from *Polygonum multiflorum*

QI Ai-di

(Department of Chinese Materia Medica, Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China)

Key words *Polygonum multiflorum* Thunb.; stilbene glucoside; orthogonal test; processing

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。按其炮制方法不同又有生首乌与制首乌之分。生首乌味苦、涩, 性平, 具有润肠、解毒和截疟之功; 制首乌味苦、甘、涩, 性温, 具有补肝肾、益精血、壮筋骨乌须发之效^[1]。现代药理

研究证明, 何首乌所含的二苯乙烯苷类化合物具有抗衰老、降低胆固醇、提高免疫功能、防治动脉硬化及保肝等作用^[2]。本实验通过正交试验, 确定了何首乌中二苯乙烯苷提取的最佳工艺, 并在此基础上比较了炮制前后二苯乙烯苷的含量。

* 收稿日期: 2001-10-31

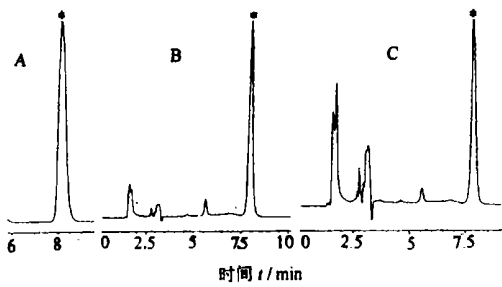
基金项目: 天津市自然科学基金重点课题 (023803711)

1 仪器与试药

HP1100高效液相色谱仪, 1314-UV 可变波长检测器, HP Rev. A. 0501化学工作站 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 甲醇 乙醇为分析纯, 二苯乙烯苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 0844-9802), 生何首乌药材及制何首乌购自不同地方。

2 色谱条件

色谱柱 Supelcosil™ LC₁₈柱 (5 μm, 4.6 mm×250 mm), 流动相为乙腈-水 (18∶82), 流速: 1.0 mL/min, 测定波长: 320 nm, 柱温: 35℃。二苯乙烯苷对照品及生首乌和制首乌的色谱图见图 1



A对照品 B生首乌 C制首乌 * 二苯乙烯苷
图 1 HPLC图

3 正交试验设计

根据何首乌所含成分的理化性质以及文献^[3]与预试验结果, 其影响因素主要有醇浓度、加醇量、提取时间等, 故以 L₉ (3⁴) 进行设计, 其因素水平见表 1, 结果见表 2, 进行统计学处理^[4], 得方差分析表见表 3

表 1 试验因素水平表

水 平	因 素		
	A乙醇浓度 (%)	B乙醇倍量	C加热时间 (min)
1	50	6.0	30
2	75	8.0	60
3	95	10.0	120

表 2 正交试验方案和结果

试验号	A	B	C	制首乌中二苯乙烯苷的含量 (mg/g)
1	1	1	1	12.12
2	1	2	2	11.97
3	1	3	3	11.61
4	2	1	2	11.38
5	2	2	3	11.16
6	2	3	1	11.43
7	3	1	3	10.49
8	3	2	1	10.84
9	3	3	2	10.23
K ₁	35.70	33.99	34.39	
K ₂	33.97	33.97	33.58	
K ₃	31.56	33.27	33.26	
R	4.14	0.72	1.13	

表 3 方差分析表

方差来源	方差平方和	自由度	均方	F值	P
A	2.88	2	1.44	96	< 0.05
B	0.11	2	0.055	4	
C	0.23	2	0.115	8	
误差	0.03	2	0.015		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$

可见各因素对提取效果影响程度依次为 A>C>B 因素 A 有显著性差异, 影响最大的是乙醇浓度, 其次为提取时间, 而乙醇用量在考察范围内影响较小。因此, 各因素的最佳水平组合为 A₁B₁C₁

验证试验: 精密称取同一制首乌粉末 (过 60 目筛) 2 g, 根据最佳水平组合处理, 结果表明二苯乙烯苷的含量与表 2 中 1 号数据基本吻合。因此确定何首乌提取工艺为: 将何首乌粉碎成粉末 (过 60 目筛), 用 6.0 倍量的 50% 乙醇加热回流 30 min

4 含量测定

4.1 标准曲线的绘制: 精密称取 3.6 mg 二苯乙烯苷对照品, 置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得对照品溶液。精密量取 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL 分别置 5 mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取 10 μL 进样, 记录色谱图。各浓度相应的峰面积经统计处理, 求得回归方程为: $Y = 27524.6X - 116.6$, $r = 0.9998$ 。进样量在 0.072~1.440 μg 线性关系良好。

4.2 样品供试液的制备: 精密称取不同来源的何首乌粉末 (过 60 目筛) 各 2 g, 置圆底烧瓶中, 加入 50% 乙醇 6.0 倍量, 水浴加热回流 30 min, 滤过, 将滤液减压蒸干, 残留物用甲醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀静置, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 备用。

4.3 精密试试验: 精密吸取对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 峰面积 RSD 为 1.46%。

4.4 重现性试验: 精密称取同一批样品 6 份, 按样品供试液的制备方法平行操作, 取 10 μL 进样, 记录色谱图, 峰面积 RSD 为 1.38%。

4.5 稳定性试验: 取对照品溶液, 按不同浓度, 每隔 30 min 进样 10 μL, 连续 4 h。结果 4 h 内峰面积积分值基本稳定, 峰面积 RSD 为 1.42%。

4.6 加样回收率试验: 精密称取同一批等量何首乌药材粉末 6 份, 分别加入对照品适量, 按样品制备方法操作, 进行色谱分析, 计算, 平均回收率为 100.03%, RSD = 1.01%。

4.7 样品含量测定 取样品供试液各 10 μL 进样,

测定二苯乙烯苷的含量,结果见表 4

表 4 不同来源何首乌中二苯乙烯苷的含量测定 (n= 4)

来 源	品 名	二苯乙烯苷 (mg/g)	RSD(%)
黑龙江省药材公司	生品	22.66	2.12
	制品	8.28	1.56
河北省药材公司	生品	13.14	2.34
	制品	4.04	2.45
山东省药材公司	生品	32.77	2.23
	制品	10.49	2.08
天津中医学院门诊部	生品	48.15	1.41
	制品	12.21	1.79

5 讨论

5.1 何首乌炮制前后,二苯乙烯苷含量差异较大,这可能与中药炮制的减毒增效有关

5.2 不同来源的何首乌中二苯乙烯苷含量相差达 2~ 3 倍之多,这说明市场上的药材质量良莠不齐,因此何首乌的炮制方法需要进一步规范化,需要制订统一的质量控制标准,以确保合理、安全的用药。

参考文献:

- [1] 苏 玮,郭 群.何首乌的现代药理研究概况[J].中草药,1997,28(2): 119.
- [2] 李玉芳,和玄华.何首乌现代研究进展[J].中成药,1997,19(5): 37.
- [3] 袁海龙,贺承山,肖小河,等.高效毛细管电泳法测定何首乌中二苯乙烯苷的含量[J].解放军药理学学报,2000,16(3): 151-154.
- [4] 贺石林.中医科研设计与统计方法[M].长沙:湖南科学技术出版社,1989.

三七中黄酮成分的含量测定

崔秀明^{1,2},董婷霞²,黄文哲²,陈中坚¹,詹华强^{2*}

(1. 云南省文山州三七研究所,云南 文山 663000; 2. 香港科技大学生物技术研究所 香港 九龙)

摘 要:目的 考察不同产地、不同规格、不同采收期三七中的黄酮含量的变化规律,为三七的质量评价提供依据。方法 采用紫外分光光度法,在 249 nm 处测定槲皮素的量。结果 不同产地、不同采收期和不同规格的三七中黄酮含量有明显差异。结论 产地、采收期和规格对三七黄酮含量具有重要影响。

关键词:三七;黄酮;产地;规格;采收期

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2002)07-0611-02

Determination of flavonoids in *Panax notoginseng*

CUI Xiu-ming^{1,2}, DONG Ting-xia¹, Huang Wen-zhe², CHEN Zhong-jian², K. W. K. Tsim²

(1. Wenshan Institute of Sanqi Research, Wenshan 663000, China; 2. Institute of Biotechnology, Hongkong University of Science and Technology, Hongkong, China)

Key words *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; flavonoids; yield regions; commercial grades; harvest time

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 具有活血化瘀、消肿止痛的功效。目前多用于冠心病、心绞痛等心脑血管系统疾病的防治。魏均娴等^[1]从三七的根和叶中均分离到了三七的黄酮成分,并指出三七黄酮与皂苷合用,生理活性最强,分开使用则证明黄酮能显著增加心肌冠脉流量^[1]。关于皂苷的化学和药理作用有较多报道,三七黄酮含量的测定未见报道。为了更好地开发三七,对三七的质量进行综合评价,本研究分析了三七不同采收时间和不同产地的总黄酮含量。

1 材料和方法

1.1 仪器: BeckmanTM 650型可见紫外分光光度计(美国),BRN ASONTM 5200超声仪器(美国)。

1.2 试剂: 甲醇(分析纯,购自 Sigma 公司),槲皮素对照品(购自中国药品生物制品检定所)。

1.3 药材: 不同采收期: 3年生三七分别于 3月至 10月采收,每月 11日采收一次,每次采收 10~ 30株,取地下部混合样作测定用;不同产地: 在三七采收期,分别于云南文山、砚山、马关、广南、丘北、西畴、广西靖西、广东南雄等地采收,所有样品均采收 30株,清洗干燥后取地下部分混合备用;不同规格的三七样品于云南文山同一块地、同一栽培条件的

* 收稿日期: 2001-09-10

基金项目: 云南省重点基础研究项目资助 (1999C0009Z)