

2.3 药典和部颁标准规定,黄柏含量二妙丸为 50%,三妙丸为 33%,四妙丸为 33%,知柏地黄丸为 7%。前三者为水泛丸,后者为水蜜丸(河南产的知柏地黄丸为浓缩丸)。对 32 种成药的含量测定结果表明,大部分成药中含有小檗碱、掌叶防己碱和药根碱。

2.4 试验中还可使用 0.4 mol/L 硝酸铵-甲醇-四氢呋喃(70 : 20 : 10)、0.1 mol/L 酒石酸-甲醇-十二烷基磺酸钠(30 : 70 : 1)、水-乙腈-四氢呋喃(50 : 45 : 5)和甲醇-水-乙腈

(40 : 30 : 30,1000 mL 含磷酸二氢钾 3.4 g 及十二烷基硫酸钠 1.7 g)等进行洗脱,但出峰或分离情况均不如现在的流动相好。

参考文献

- 1 袁嵩芝. 浙江药学,1986,(11):10
- 2 邱晓星,等. 药学报,1986,21(6):658
- 3 日本药局方. 第十二改正,第二部:189
- 4 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编. 上册. 人民卫生出版社,1986. 769

(1996-11-06 收稿)

Determination of Berberine, Palmatine and Jatrorrhizine in Ermiao Wan, by HPLC Sanmiao Wan, Simiao Wan and Zhibaidihuang Wan by HPLC

Pan Yang, Ma Guoxiang, Guo Liwei

A reverse-phase HPLC method was described for the determination of berberine, palmatine, and jatrorrhizine in Ermiao Wan, Sanmiao Wan, Simiao Wan and Zhibaidihuang Wan (ready made Chinese medicinal pills with two, three and four subtle ingredients, and pills containing *Phellodendron amurense* and *Rehmannia glutinosa* etc.). The three constituents were separated on a Nova-Pak C₁₈ 3.9(i.d)×150 mm column, using acetonitrile-water (1 : 1, containing 3.4 g KH₂PO₄ and 1.7 g CH₃(CH₂)₁₁ SO₃ Na per 1000 mL) as the mobile phase, detected at 345 nm. The average recoveries of the three constituents were 98.67±2.39%, 98.75±1.67% and 98.38±2.31% respectively.

杜仲的炮制及降压成分提取工艺的研究

华中农业大学食科系(武汉 430070) 戚向阳* 喻晓辉 张声华 程秋琼

摘要 研究了杜仲中主要降压成分松脂醇二葡萄糖甙的提取条件及不同炮制工艺对其含量的影响。结果表明:杜仲粉采用 70%乙醇水溶液,于 90℃温度下以 1 : 6 的料液比浸提 3 次,每次 30 min,松脂醇二葡萄糖甙的浸出量最高。杜仲的炮制中,温度及时间对松脂醇二葡萄糖甙含量影响最为显著,随着温度升高,时间的延长,其含量下降。浸盐量对松脂醇二葡萄糖甙含量的影响不大。

关键词 杜仲 炮制 浸提 松脂醇二葡萄糖甙

杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 具有很好的降压作用,且疗效平稳、无毒、无副作用^[1]。美国威斯康星大学研究认为,杜仲中主要的降压成分为松脂醇二葡萄糖甙^[2]。

杜仲临床多经炮制后入药,炮制方法有盐炒、砂烫、烘制等,多年来国内外对杜仲炮制工艺虽做了一些探讨^[3,4],但有关炮制工艺

对杜仲中有效成分的影响尚未见有关报道。据文献报道^[3,4,5],经不同方法炮制的杜仲,以烘制品的质量较好,故本文以烘制为炮制方法,研究烘制工艺对杜仲中主要降压成分松脂醇二葡萄糖甙的影响及其最佳的提取条件,为最佳炮制工艺的选择及松脂醇二葡萄糖甙的进一步纯化提供一定的理论依据。

* Address: Qi Xiangyang, Department of Food Sciences, Middle China Agriculture University, Wuhan

1 材料与仪器、试剂

杜仲皮:采自湖北省郧西县,经湖北中医学院陈绪伦教授鉴定为杜仲的干燥树皮。

Shimadzu SCL-6A 高效液相色谱仪。

松脂醇二葡萄糖甙:日本 Takeshi Deyama Ph.D 赠送。

2 实验方法

2.1 松脂醇二葡萄糖甙含量的测定:炮制样品的处理^[6]:准确称取一定量的炮制杜仲粉,置于索氏提取器中,加 60 mL 氯仿回流提取 6 h,以除去杜仲胶等杂质。残留物挥去氯仿后,用 60 mL 甲醇浸泡过夜,再置索氏提取器中,用甲醇回流 6 h,将甲醇提取液浓缩,再用甲醇定容至 25 mL。供 HPLC 分析。

2.2 浸提样品的处理:称取适量的杜仲粉末,用溶剂浸提数次后过滤,合并滤液,减压浓缩至干,用甲醇溶解,定容至一定体积。

2.3 色谱条件^[7]:色谱柱:Shim-Pack CLC-SIL 150 mm×6.0 mm;流动相:氯仿-正己烷-甲醇-冰乙酸(45:30:23:2 v/v),流速:1.0 mL/min,柱温:室温;紫外检测器:0.04 μV,检测波长:280 nm。

根据标样的保留时间进行定性,按峰面积计算组分的相对含量。

3 结果与讨论

3.1 杜仲炮制工艺的研究:将刮去粗皮,洗净后于 60℃烘干并切成 0.5 cm 宽的杜仲丝片进行 L₉(3³)正交试验,研究不同烘制因素(温度、时间及浸盐量)对杜仲中松脂醇二葡萄糖甙含量的影响。结果见表 1~表 3。

由表 1~表 3 的结果可知:炮制温度(因子 A)和炮制时间(因子 B)对松脂醇二葡萄糖甙的含量影响显著,在所试验的水平范围内,提高炮制温度,延长炮制时间,松脂醇二葡萄糖甙的破坏加剧,含量下降。浸盐量(因子 C)的影响很小,各水平间的差异不大。

根据试验结果,A、B 两因子选水平 1,C 因子选水平 2,即 A₁B₁C₂。最佳的炮制条件为:采用 2%的浸盐量,在 120℃的温度下烘制 30 min。但在临床中,杜仲常高温炒断丝

入药,且炮制品的降压作用优于生杜仲。因此,对于杜仲的炮制意义,尚需进一步从成分间比例变化或是否产生新成分等进行探讨。

表 1 不同炮制条件对松脂醇二葡萄糖甙含量的影响

因子 水平	A 温度(℃)	B 时间(min)	C 浸盐量(%)
1	120	30	1
2	150	60	2
3	180	90	3

表 2 试验计划、结果及计算分析

列号	A	B	C	D	实验结果
实验号	温度	时间	浸盐量		松脂醇二葡萄糖甙的损失率(%)
1	1	1	1	1	32.82
2	1	2	2	2	15.64
3	1	3	3	3	37.99
4	2	2	3	1	36.67
5	2	3	1	2	75.38
6	2	1	2	3	30.26
7	3	3	2	1	84.36
8	3	1	3	2	34.14
9	3	2	1	3	84.36
K ₁	86.45	97.22	192.56	153.85	
K ₂	142.31	136.67	130.26	125.16	
K ₃	202.86	197.73	108.8	152.61	
k ₁	28.82	32.41	64.19	51.28	
k ₂	47.44	45.56	43.42	41.72	
k ₃	67.62	65.91	36.27	50.87	
R	38.80	33.5	27.92	9.56	

注:杜仲粉末 4.00 g

表 3 炮制条件的方差分析

方差分析	偏差平方和	自由度	均方	F 显著性
A	2259.77	2	1129.89	12.89*
B	1709.65	2	854.83	9.75*
C	1261.95	2	630.98	7.20
D	175.35	2	87.68	

*显著

3 松脂醇二葡萄糖甙的提取工艺

3.1 浸提溶剂的选择:杜仲中的有效成分常用甲醇、乙醇、丙酮、水等溶剂来提取。我们研究了不同浓度的甲醇、乙醇及沸水对松脂醇二葡萄糖甙的浸提效果,结果见图 1 中 A。50%甲醇溶液浸提效果最好,随着甲醇浓度的升高,浸提率下降。乙醇的提取效果略低于

甲醇,以70%浓度最佳。水的提取效果较差,且用水作溶剂,会溶出大量多糖类物质,增加溶液粘度,使过滤操作困难,因此,考虑到溶

剂的安全性、生产成本及便于操作等因素,本实验选用70%乙醇水溶液作为浸提溶剂。

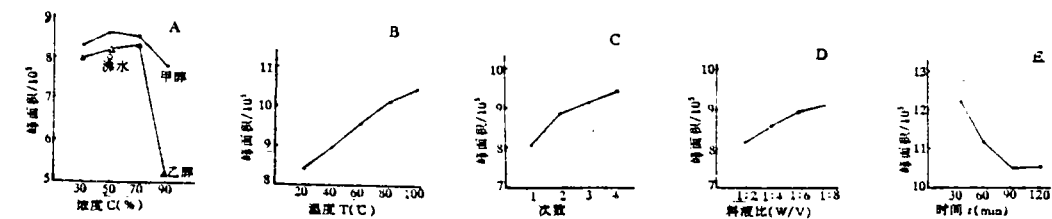


图1 不同提取条件对松脂醇二葡萄糖甙提出效果的影响

A-不同溶剂(杜仲粉3.50 g,室温,浸提5 h,2次,溶剂20 mL) B-温度(杜仲粉2.00 g,料液比1:6,2次,时间1 h) C-浸提次数(杜仲粉2.00 g,料液比1:6,1 h,室温) D-料液比(杜仲粉2.00 g,2次,1 h,室温) E-浸提时间(杜仲粉2.00 g,料液比1:6,3次,常温)

3.2 浸提条件的选择

3.2.1 温度:由图1中B可知,随着温度升高,松脂醇二葡萄糖甙的浸出量增加。

3.2.2 浸提次数:在常温下对杜仲粉浸提3次后,再增加浸提次数,松脂醇二葡萄糖甙的浸出量无显著提高(见图1中C)。

3.2.3 液料比:溶剂量越多,二糖甙的提取效果越好,当液料比大于6:1时,再增加溶剂量,松脂醇二葡萄糖甙的浸出量增加不显著,见图1中D。

3.2.4 浸提时间:随着浸提时间的延长,松脂醇二葡萄糖甙的浸出量下降,见图1中E。

表4 不同浸提条件对松脂醇二葡萄糖甙浸提效果的影响

因子	A	B	C	D
水平	温度(C)	浸提时间(min)	浸提次数	料液比(w/v)
1	30	30	1	1:2
2	60	60	2	1:4
3	90	90	3	1:6

在以上单因子试验的基础上,对影响松脂醇二葡萄糖甙提取率的因素:浸提温度、浸提次数、浸提时间及料液比进行L₉(3⁴)正交试验,结果见表4~表6。

由表4~表6可知:浸提温度(因子A),浸提次数(因子C),料液比(因子D)对松脂醇二葡萄糖甙浸出率的影响达到显著水平。随着温度的升高,次数的增加,液料比的增大,松脂醇二葡萄糖甙浸出量明显提高,根据

K值大小,A、B、C三因子都选水平3。浸提时间(因子B)对松脂醇二葡萄糖甙浸出率无显著影响,该因子可选水平1。

表5 试验计划、浸提结果及计算分析

列号	A	B	C	D	试验结果
试验号	温度	时间	次数	料液比	峰面积/10 ³
1	1	1	1	1	4.83
2	1	2	2	2	6.50
3	1	3	3	3	8.11
4	2	1	2	3	7.89
5	2	2	3	1	6.72
6	2	3	1	2	5.78
7	3	1	3	2	9.02
8	3	2	1	3	7.97
9	3	3	2	1	7.61
K ₁	19.44	21.74	18.56	19.16	
K ₂	20.39	21.19	22.00	21.30	
K ₃	24.60	21.50	23.86	23.97	
k ₁	6.48	7.25	6.19	6.39	
k ₂	6.80	7.06	7.33	7.10	
k ₃	8.20	7.17	7.95	7.99	
R	1.72	0.19	1.76	1.60	

注:杜仲粉4.00 g 溶剂70%乙醇

表6 浸提条件方差分析

方差分析	偏差平方和	自由度	均方	F显著性
A	5.05	2	2.525	74.37*
B	0.068	2	0.03395	(误差项)
C	4.94	2	2.470	72.75*
D	3.89	2	1.985	58.47*

*显著

综上分析,最佳的浸提条件为A₃B₁C₃D₃,即杜仲粉用70%乙醇于90℃以1

: 6 的料液比浸提 3 次,每次 30 min。

参 考 文 献

1 张康健.西北林学院学报,1994,9(4):58

2 Charles J S,et al. J Am Chem Soc,1974,98(17):5412

3 李 川,等.中药材,1989,12(2):29

4 颜成杰.中药材,1990,13(6):21

5 刘淇文,等.中药材,1994,17(5):28

6 沙振方,等.药学报,1986,21(9):708

(1996-08-16 收稿)

Studies on the Roasting of the Bark of *Eucommia*(*Eucommia ulmoides*) and Extraction of the Major Hypotensive Compound

Qi Xiangyang, Yu Xiaohui, Zhang Shenghua, et al

Effects of roasting and extraction condition on the content of (+)-pinoresinol-di- β -D-glucoside in bark of *Eucommia ulmoides* Oliv. were studied. Results showed that when the bark was extracted for 3 $\times$ 30 min with 6:1 (solvent:bark) of 70% ethyl-alcohol at 90 $^{\circ}$ C gave the best result. Roasting had a great influence on the content of (+)-pinoresinol-di- β -D-glucoside, which decreased with increase of temperature and time.

超临界 CO₂ 流体萃取光菇子中秋水仙碱的研究 Δ

华西医科大学药学院(610041)

姜继祖* 叶开润 廖周坤 徐小平

四川省机械研究设计院

辛复泰 杨儒达

摘 要 建立了一套超临界 CO₂ 流体萃取实验装置,对光菇子的秋水仙碱(colchicine)成分进行了超临界 CO₂ 流体萃取研究,并用 HPLC 法作了含量测定。结果表明,加夹带剂的超临界 CO₂ 流体萃取法的提取率约提高为传统溶剂萃取法的 1.25 倍。

关键词 超临界 CO₂ 流体萃取 夹带剂 光菇子 秋水仙碱

在超临界 CO₂ 流体萃取(CO₂-SFE)中,由于处于超临界状态下的 CO₂ 流体(CO₂-SF)兼顾了气体及液体的传质特点,且 CO₂-SF 的特性及极性还可通过调节萃取压力、温度、加不同品种的夹带剂……等因素而方便地调节,从而使 CO₂-SFE 显示了快速、提取率高、选择性好等特点。近年来国内外对 CO₂-SFE 的应用开发及基础研究相当活跃^[1,2]。现用自己设计的 CO₂-SFE 实验装置对光菇子 *Iphigenia indica* 球茎中的秋水仙碱(colchicine, C₂₂H₂₅NO₆, 可用于治疗痛风及肿瘤^[3])进行了萃取试验研究。由于秋水仙

碱的分子量较大,单独采用 CO₂-SF 难以萃取^[4],本试验参考溶剂萃取法所用的溶剂^[5,6],进行了以不同浓度乙醇为夹带剂的 CO₂-SFE 的试验研究,用同批原料作了溶剂萃取法对比实验,所得萃取液均采用 HPLC 法测定秋水仙碱含量,取得了显著效果。

1 仪器与药品

CO₂-SFE 实验装置系自行设计(该装置于 1995 年 12 月经四川省科委组织鉴定通过);萃取器容积 300 mL,操作压力可达 30 MPa,第一、二分离器容积均为 350 mL,操作压力可达 5 MPa,萃取器及第一分离器带加

* Address: Jiang Jizy, College of Pharmacy, West China Medical University, Chengdu

Δ 四川省科委应用基础研究基金资助项目