

1.3.5 稳定性实验:取盐酸水苏碱标准曲线项下的斑点,每隔 0.5 h 扫描 1 次。结果盐酸水苏碱峰面积值在 5 h 内基本不变, $RSD=1.24\%$ 。斑点在 5 h 内基本稳定

1.3.6 重复性实验:取同一批号的样品,分别精密称取 5 g,共 5 份,按上述方法提取,点样,展开,显色后扫描测定各斑点, $RSD=2.25\%$ ($n=5$)。

2 讨论

2.1 在样品定量时,糖的干扰很大,所以去糖是关键。试用硅藻土,糖被大量吸附时,生物碱也被吸附

了。本文采用超声提取法^[3],效果较为理想

2.2 薄层扫描时,背景较深,校正背景时选择测定波长为 580 nm,效果最好。

2.3 用薄层色谱法对新生化冲剂中的水苏碱进行定性、定量分析,方法简便、快捷、可靠,利于提高新生化冲剂的质量控制指标。

参考文献:

- [1] 卫生部药品标准·中药成方制剂[S].第五册.1992:194.
- [2] 中国药典一部[S].1995:261.
- [3] 郭孝武,杨锐.不同频率超声提取对益母草总碱提出率的影响[J].中国医院药学杂志,1999,19(8):465-466.

纤维素酶在葛根总黄酮提取中的应用

邢秀芳¹,马桔云¹,于宏芬²,于喜水¹

(1. 黑龙江省中药研究所,黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江康尔药业股份有限公司,黑龙江 哈尔滨 150040)

中图分类号: TQ461

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)01-0037-02

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *P. thomsonii* Benth. 的干燥根,系常用中药。葛根在我国分布广泛,资源丰富,具有多种药理和临床作用^[1,2]。葛根中含有多种有效成分,主要为异黄酮类^[3]。近年来,纤维素酶在国外广泛应用于各领域,马田田将纤维素酶用于黄柏提取小檗碱的实验中,小檗碱的收率有显著提高^[4]。本文将纤维素酶用于葛根总黄酮的提取中,为纤维素酶在中药提取中的应用提供依据。

1 材料与药品

纤维素酶粗品(活力单位约 2 000 U/g)为海林万力达集团公司提供;葛根购于黑龙江省药材公司;葛根素对照品购于中国药品生物制品检定所;所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 酶解实验:将药材饮片粉碎约 1 cm 左右,用 3 倍量水浸泡,用盐酸调 pH4,加 0.5% 纤维素酶充分搅拌,置 40℃ 恒温水浴内保温 1.5 h。

2.2 葛根总黄酮提取工艺:见图 1。

2.3 葛根总黄酮含量测定

2.3.1 标准曲线绘制:精密称取干燥至恒重的葛根素 5 mg 于 25 mL 容量瓶中,加 95% 乙醇溶解并稀释至刻度,精密吸取 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 置

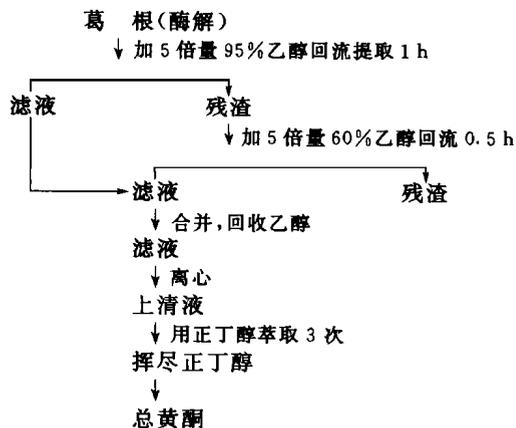


图 1 葛根总黄酮提取工艺流程图

10 mL 容量瓶中,精密加水稀释至刻度,摇匀。同时精密吸取 1 mL 95% 乙醇,加水至 10 mL 做空白对照,在 250 nm 波长处测定吸光度。回归方程: $A = -0.0544 + 0.08778C$, $r = 0.9998$ 。

2.3.2 葛根提取物中总黄酮的测定:将 2.2 中所得总黄酮精密称取一定量(相当于 20 g 生药),加 60% 乙醇溶解,置 100 mL 容量瓶中定容,摇匀,精密吸取 0.2 mL 至 50 mL 容量瓶中,加水至刻度摇匀。同时吸取 1.0 mL 95% 乙醇加水至 10 mL 的溶液做空白对照,在 250 nm 波长处测定吸光度。从标准曲线上换算出葛根总黄酮的含量。

2.4 收率与结果见表 1, 2

表 1 加酶与未加酶提取葛根总黄酮的收率

加酶法	葛根总黄酮收率 (%)	未加酶法	葛根总黄酮收率 (%)
1	8.40	1	7.73
2	8.82	2	8.03
3	8.85	3	7.84
4	8.92	4	7.06
5	8.41	5	7.76

表 2 2种不同工艺提取结果比较

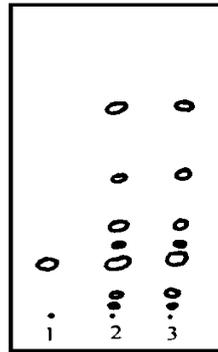
提取率	加酶法		未加酶法		t值	P值
	\bar{x}_1	s1	\bar{x}_2	s2		
	8.68	0.2537	7.684	0.3679	4.98	< 0.01

$t_{0.01}(8) = 3.3554$

2.5 薄层层析: 将加酶、未加酶得到的提取物与葛根素对照品分别点于同一硅胶 G板上, 以氯仿-甲醇-水 (7: 2.5: 0.5) 为展开剂, 展开, 展距 10 cm, 在 254 nm 紫外灯下观察荧光。薄层色谱见图 2

3 讨论

3.1 用葛根提取总黄酮, 我们进行了加酶与不加酶的对比实验, 从用纤维素酶提取葛根总黄酮的实验中, 在纤维素酶的作用下, 葛根总黄酮的收率提高了



1-葛根素 2加酶提取物 3未加酶提取物

图 2 葛根 TCL图

13%; 经 t 检验, 两种提取方法的 P < 0.01

3.2 从薄层层析结果显示, 加酶与不加酶提取出的成分一致, 说明酶解没有破坏葛根的成分。可以认为纤维素酶可以用于葛根总黄酮的提取

3.3 由于中药材存在着质地和成分等差别, 因此把纤维素酶广泛应用于中药材的提取中, 值得进一步深入研究。

参考文献:

[1] 李小鹰, 王培仁, 邵建华. 静脉注射葛根素对犬急性心肌梗塞范围的影响 [J]. 山东医学院学报, 1984, 22(3): 9-17.
 [2] 李小鹰, 王培仁, 邵建华. 葛根素对急性心肌梗塞患者梗塞范围的影响 [J]. 中国心血管病杂志, 1985, 13(3): 175-178.
 [3] 左春旭, 丁杏苞, 刘翎. 葛根非黄酮成分 [J]. 中草药, 1987, 18(11): 10.
 [4] 马田田. 纤维素酶用于中药提取的初步研究 [J]. 中草药, 1994, 25(3): 123.

(上接第 18页)

0.95(3H, t, J= 7.2 Hz, H-1), 1.40(2H, m, H-2), 1.50(2H, m, H-3), 3.5(2H, m, H-4). ¹³C NMR (CD₃OD) δ 14.4(C-1), 20.5(C-2), 33.4(C-3), 61.7(C-4), 63.5(C-6'), 65.2(C-1'), 70.6(C-3'), 71.1(C-5'), 71.6(C-4'), 101.6(C-2'). 综合解析该化合物为 β-D-正丁基果糖苷。

化合物 VI: 白色针晶, m.p 306.0 °C~ 307.0 °C; Liebermann-Burchard 反应绿色, 示母核中有甾类; Molisch 反应阳性, 示为苷类化合物。按文献^[7]方法进行酸水解薄层层析, 以标准 β-D-葡萄糖, α-L-鼠李糖对照, 确定糖部分具有 β-D-葡萄糖, α-L-鼠李糖 IR (KBr)

cm⁻¹: 3450(OH), 2940(CH₂ CH), 1630(C= C), ¹H NMR (CD₃OD) δ 0.78~ 1.32(18H, 6× CH₂), 1.50~ 2.20(24H, m), 3.27~ 4.20(17H, m), 4.40(1H, m, H-3), 4.50(1H, J= 7.5 Hz, glc H-1), 4.75(1H, rha H-1), 4.85(8H, s, 糖上 8 个 OH), 5.20(1H, d, J= 1 Hz, rha H-1), 5.37(1H, brs). ¹³C NMR (CD₃OD) δ 苷元部分: 14.9(C-21), 16.8(C-18), 19.8(C-19), 22.0(C-11), 30.8(C-2), 32.2(C-15), 32.5(C-23), 32.8(C-7), 32.8(C-8), 38.1(C-10), 38.6(C-1), 39.6(C-4), 41.0(C-12), 41.5(C-13), 42.9(C-20), 51.8(C-9), 57.8(C-14), 63.8(C-17),

79.3(C-3), 82.2(C-16), 110.6(C-22), 122.7(C-6), 141.9(C-5); 糖部分: glc 62.0(C-6), 76.6(C-3), 78.1(C-5), 79.3(C-4), 80.0(C-2), 103.0(C-1); rha 18.0(C-6), 70.7(C-5), 72.4(C-3), 72.5(C-4), 74.1(C-2), 102.3(C-1); rha 17.9(C-6), 69.8(C-5), 72.2(C-2), 72.2(C-3), 73.8(C-4), 100.5(C-1). FAB-MS m/z 869(M+ H), 723(M- rha), 613, 569, 415, 397, 309, 139, 126, 119, 115 综合解析上述数据, 并与文献^[8]对照, 该化合物鉴定为薯蓣皂苷

化合物 VII: 为果糖

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
 [2] Schoensiegel, Ingomar, Egger, et al. Flavonol glycosides in the flowers of *Gynadenia conopsea* [J]. Z Pflanzenphysiol, 1969, 6(4): 343-345.
 [3] Dieter S, Ekkehard B, Victor W, et al. Cyanidin 3-oxalylglucoside in orchids [J]. Z Naturforsch, G Biosci, 1986, 41(7/8): 707-711.
 [4] Friedrich V M, Martin A R S. Indirect ¹³C-¹H coupling in asymmetrically trisubstituted benzenes. A Carbon-13 Nuclear magnetic resonance study [J]. J C S Perkin, Trans II, 1976, (9): 979-980.
 [5] Wright J L C, McInnes A G, Shimizu S, et al. Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. CAN J CHEM, 1978, 56(14): 1898-1903.
 [6] Milton T W H. Carbon-13 chemical shifts in some substituted furans and thiophenes [J]. Aust J Chem, 1976, 29(1): 107-113.
 [7] 赵萍萍, 李宝明, 何丽一. 苷中结合糖测定方法的研究 [J]. 药学学报, 1987, 22(1): 70-74.
 [8] Agrawal P K, Jain D C, Gupta R K, et al. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal saponins and steroidal saponins [J]. Phytochemistry, 1985, 24(11): 2479-2496.