

解,超声震荡。各药物临用前用对应的溶剂稀释到所需浓度,煮沸 30 min 消毒。处理细胞时,DMSO 的终浓度小于或等于 0.1%。实验表明该浓度对细胞生长无影响

取对数生长期的 HL-60 细胞  $1.0 \times 10^5$  /mL,加入 24 孔板中,每孔 1 mL,用药组分别在每孔中加入相当于槲皮素或 QAC 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50  $\mu$ g / mL 的各溶液 1  $\mu$ L,对照组只加入 1  $\mu$ L 相应溶剂,每组均设 3 个平行孔,设好空白对照孔,加药的细胞于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的饱和湿度孵箱中培养 24 和 48 h 后,用台盼蓝拒染法并在倒置显微镜下进行活细胞计数,计算药物对细胞的抑制率,并按改良 Karber 公式计算得 IC<sub>50</sub> 值分别为 11.9 和 7.84  $\mu$ g / mL; QAC 在 24 和 48 h 对 HL-60 细胞生长抑制的 IC<sub>50</sub> 值分别为 13.1 和 9.13  $\mu$ g / mL

### 3 讨论

3.1 我们曾对多种槲皮素和 L-精氨酸的物料比进行了研究,通过对产品含量检测和生物活性的比较,筛选出当槲皮素和精氨酸的物质的量比为 1:1 时,制备的 QAC 能得到较大的水溶性和对 HL-60 细胞生长仍具有较强的抑制活性。

3.2 QAC 的结构初步鉴定是通过胶束纸色谱、紫外吸收光谱、红外吸收光谱和 X 射线衍射图谱来进行的。在 0.01 mol/L SDS 胶束溶液中,纸色谱显示 QAC 迁移值为 R<sub>f</sub> = 0.652,远大于苷元槲皮素的迁移值,具有与苷类相似的迁移速度<sup>[7]</sup>,预示槲皮素分子中的羟基被精氨酸结合后,极性增大。紫外吸收光谱显示, QAC 只出现的带 I 吸收峰,波长为 327 nm,与槲皮素的最大吸收波长 373.5 nm 相比, QAC 的带 I 吸收峰向短波方向移动,并且是肩峰,

表明槲皮素分子上的羟基已被结合。而 QAC 的带 II 吸收峰不明显,这与槲皮素结构中的 C 环上的 3', 4' 双羟基系统丧失有关<sup>[8]</sup>。此外,红外吸收光谱也显示,槲皮素表现多羟基的宽峰到 QAC 中变化成尖锐的单峰,表明羟基缔合强度的减弱和数目的减少。而且 X 射线衍射图谱表明槲皮素与 L-精氨酸形成 QAC。因此,可初步确定槲皮素的 3', 4' 双羟基位上结合了精氨酸。进一步的结构鉴定有待继续进行。

3.3 制备的 QAC 较易氧化和潮解。回流反应结束时,反应混合物呈杏黄色,但当在除去未反应的槲皮素和精氨酸后,产品很快转变成橙红色,显示产品在空气中极易氧化。在反应中,我们采用 N<sub>2</sub> 气流保护,反应后加入少量 NaHSO<sub>3</sub> 作抗氧化剂,有效地提高了产品的抗氧化能力。QAC 易潮解,当真空干燥后的产品一旦暴露在空气中,立即潮解成粘稠的胶状体,因此,产品的 QAC 含量测定选择通过标准曲线法获得。

### 参考文献:

- [1] 刘诗平,陈尚猛,朱卫东. 槲皮素衍生物的生物活性研究进展 [J]. 中草药, 1991, 22(4): 182-184.
- [2] Kim J H, Kim S H, Alfieri A A, *et al.* Quercetin— an inhibitor of lactate transport and a hyperthermic sensitizer of HeLa cells [J]. Cancer Res, 1984, 44: 102-106.
- [3] Kang T B, Liang N C. Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of HL-60 Leukemia cells [J]. Biochem Pharmacol, 1997, 54: 1013-1018.
- [4] 郑惠珍,唐朝枢. L-精氨酸的跨膜转运及临床意义 [J]. 国外医学—生理、病理科学与临床分册, 1999, 19(6): 475-478.
- [5] 赵维中,戴利明,方明,等. 槲皮素在兔体内的药代动力学 [J]. 中国药理学通报, 1992, 8(6): 452-455.
- [6] 顾学裘,李焕秋,乔博路. 鹤草酚精氨酸盐注射剂的研究 [J]. 中草药, 1980, 11(8): 346-349.
- [7] 余戟,陈杰,莫丽儿,等. 胶束纸色谱法分离和鉴别黄酮类化合物 [J]. 广东医学院学报, 1999, 17(2): 102-104.
- [8] K R 马卡姆. 黄酮类化合物结构鉴定技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1990.

## 不同提取工艺的龙血竭差异

胡迎庆,张静泽,刘成航\*,邓昌沪\*\*\*

(武警医学院 药学教研室,天津 300162)

摘要: 目的 鉴别不同工艺提取的龙血竭中化学成分的差异。方法 采用薄层色谱法、紫外分光光度法和高效液相色谱法对不同工艺提取的龙血竭进行分析。结果 新工艺提取的血竭中二氢查尔酮类化合物的含量较传统工艺提取的血竭高,二氢查尔酮类化合物含量高,但黄酮类和萜类成分含量低。结论 免加热工艺为一种独创的、提取率高的新技术,具有推广价值,将推动中药现代化研究的步伐。

\* 收稿日期: 2001-12-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070088)

作者简介: 胡迎庆 (1964-),女,江西上饶人,理学硕士,从事天然药物的研究与开发。Tel 022-60578198

\* 吉林通化东宝药业股份有限公司威海东宝制药厂

\*\* 厦门今润丰华医药科学有限公司

关键词: 工艺; 龙血竭; 化学成分

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)08-0697-03

## Difference of Dragon's Blood from different extract processing

HU Ying-qing, ZHANG Jing-ze, LIU Cheng-hang, DENG Chang-lu

(Department of Pharmacy, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

**Abstract** **Object** To identify the differences of chemical constituents of Dragon's Blood obtained by different extract processing. **Methods** The mentioned Dragon's Blood was analyzed by TLC, UV spectrophotometry, and HPLC. **Results** The contents of dihydrochalcone in Dragon's Blood by the new extract processing were higher than that by traditional ones, while the contents of flavonoid and stibene were lower. **Conclusion** The heating-free technology is a new technique that is an original with higher extract rate, and it is worth of spreading. It will promote the modernization of TCM.

**Key words** extract processing; Dragon's Blood; chemical constituents

一类新药材龙血竭收载于 1999 年国家药品监督管理局颁布的国家标准<sup>[1]</sup>中,为百合科龙血树属植物剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的 95% 乙醇提取物,具有活血散瘀、消炎止痛、收敛止血、生肌敛疮、补血益气等功效。龙血竭的生产工艺多为传统醇提取工艺,必须依靠热源提取,市场上主要有芒果牌血竭、束龙牌血竭和大观牌血竭等。本实验用一种新型免加热提取工艺提取剑叶龙血树的树脂,并将其与传统工艺提取的龙血竭进行比较。

### 1 仪器与试药

日本岛津 1601 紫外分光光度仪;日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪(双泵),SPD-10A 紫外检测仪,C-R8A 记录仪,CTO-10AS 柱箱;束龙牌血竭(中国医学科学院版纳华胜制药厂生产,批号 960515),芒果牌血竭(广西中医学院药厂生产,批号 990505),新工艺提取的龙血竭(厦门今润丰华医药科学公司提供,批号 010601);龙血素 A 龙血素 B 紫檀酮对照品(自制,归一化法含量 > 98%);硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层层析(青岛海洋化工厂);甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

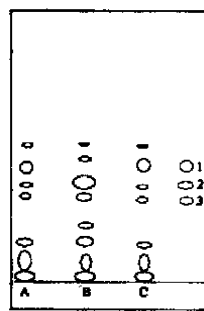
### 2 实验方法

**2.1 新工艺龙血竭的制备:** 免加热提取工艺,即运用压力交变法,给浸泡药材的溶媒施加压强,强制植物细胞几何形状改变,改善细胞壁两侧的渗透压,溶出细胞内各成分,分离除去固相杂质,再利用低温干燥空气热平衡法干燥,得到龙血竭提取物。

**2.2 性状比较:** 芒果牌血竭为不规则颗粒,表面红棕色或红褐色,有光泽,质硬而脆;束龙牌类圆球形,表面红棕色,破碎面红褐色至黑色,有光泽,有沟纹及用包裹遗留下的布纹,顶端有包扎成型时聚成的

簇状凹凸,底部圆平,质硬而脆;新工艺提取的血竭为红褐色薄片状,质地疏松,有光泽,手捻之易碎。3 种血竭气味均有特异微清香,嚼之有砂粒感,微粘牙。

**2.3 薄层色谱:** 精密称取各样品 20 mg,甲醇定容于 1 mL 量瓶中作为供试品溶液;精密称取 10 mg 龙血素 A B 和紫檀酮对照品 10 mg,甲醇定容于 10 mL 量瓶中作为对照品溶液。分别将供试品溶液和对照品溶液各 2  $\mu$ L,点样于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯(3:1)为展开剂,展开,展距 10 cm,取出,晾干,置紫外灯(254 nm)下检视,见图 1。结果新工艺中可见到传统工艺中未见的斑点,各斑点的大小也不同。

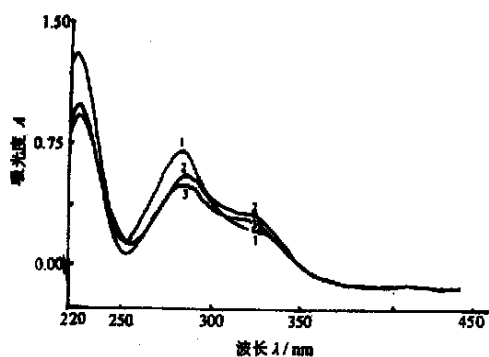


A 芒果牌血竭  
B 新工艺血竭  
C 束龙牌血竭  
1 紫檀酮 2 龙血素 A  
3 龙血素 B  
图 1 不同工艺提取血竭的薄层色谱图

**2.4 紫外光谱:** 精密称取样品各 15.0 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,作为备用液。吸取备用液过滤,精密吸取滤液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,置紫外分光光度仪中,在 220~450 nm 范围内进行扫描,记录紫外吸收光谱,结果见图 2。

紫外光谱图显示:新工艺提取的血竭在 285 nm 时的 A 值比两种传统工艺方法提取血竭的高。270~285 nm 内主要是血竭中二氢查尔酮类(龙血素 A B 等)成分,推测新工艺中龙血素类成分高于传统工艺中的含量,与薄层色谱的结果一致。但在 330 nm 时新工艺提取的血竭的 A 值小于两种传统工艺方法提取血竭。300~330 nm 内主要为血竭中黄酮类和甾类成分,

推测新工艺提取的血竭中含黄酮或 类成分低于传统工艺中的含量,与薄层色谱中看到的紫檀 含量较低结果一致。



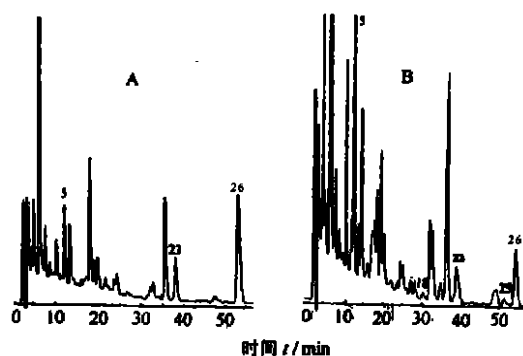
1 新工艺血竭 2 芒果牌血竭 3 束龙牌血竭

图 2 3种血竭的紫外光谱图

2.5 高效液相色谱<sup>[2]</sup>: 色谱条件: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 乙腈-1%冰醋酸溶液 (33: 67) 为流动相, 室温, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 280 nm 测定方法: 分别吸取芒果牌血竭和新工艺提取的血竭备用液, 微孔滤膜 (0.45 μm) 过滤, 取续滤液各 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录 HPLC 色谱图。结果见图 3

图 3 中进一步证实: 新工艺提取的血竭中所含化合物较传统工艺提取的化合物多, 且含量高, 大多数峰的峰面积大于芒果牌血竭, 如第 5 号峰的峰面积新工艺提取的血竭比传统工艺的高出 28 倍。另外还含有芒果牌血竭中未检出的微量成分, 如第 18 和 25 号峰; 但第 26 号峰的峰面积却小于传统工艺提

取的芒果牌血竭, 该峰为紫檀。



A 芒果牌血竭 B 新工艺血竭

图 3 HPLC 色谱图

### 3 讨论

厦门今润丰华医药科学公司采用免加热提取工艺, 使药物的提取率大大提高 (约为 23% ~ 25%), 这样有利于节约药物资源, 降低生产成本; 所提取的化学成分及含量明显提高, 尤其适用于遇热易发生变化的化学成分的提取与分离。新工艺提取物为疏松的薄片状, 在甲醇、丙酮、95%乙醇和 75%乙醇中的溶解度、澄明度均优于现在市场上各种品牌的血竭, 用其为原料进行制剂, 分散度高, 表面积大, 有利于吸收。其化学成分的含量与现在上市的传统工艺提取的血竭存在差异, 其药效上是否也存在差异, 还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] WS3-082(Z-016)-99(Z), 国家药品监督管理局标准 [S].
- [2] 胡迎庆, 张静泽, 刘岱琳, 等. 两种“束龙牌”血竭的真伪鉴别 [J]. 中草药, 2002, 33(4): 358-360.

## 参附汤方药 4 种方法提取液的成分比较

修彦凤<sup>1</sup>, 孙秀梅<sup>2</sup>, 张兆旺<sup>2\*</sup>

(1. 上海中医药大学中药学院 药剂教研室, 上海 200032 2. 山东中医药大学中药学院 药剂教研室, 山东 济南 250014)

摘要: 目的 选择参附汤方药成分的提取工艺。方法 以人参二醇、人参三醇、总生物碱、酯型生物碱、丹参酮 II<sub>A</sub>、原儿茶醛、总糖、干浸膏为指标, 在药材粒度、溶剂量、煎提温度、滤过、浓缩等条件相同的前提下, 采用半仿生提取 (SBE) 法、水提取 (WE) 法、半仿生提取醇沉 (SBAE) 法、水提醇沉 (WAE) 法进行比较研究。结果 8 个指标综合评价 Y 值为: SBE 法 > WE 法 > SBAE 法 > WAE 法。结论 参附汤方药成分的提取以 SBE 法提取为佳。

关键词: 参附汤; 指标成分; 提取方法

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)08-0699-04

\* 收稿日期: 2001-11-12

作者简介: 修彦凤 (1974-), 女, 山东栖霞人, 助教, 在读博士研究生, 2000 年毕业于山东中医药大学中药专业, 研究方向为中药质量控制 Tel 021-54231526 E-mail xiuyf@sohu.com