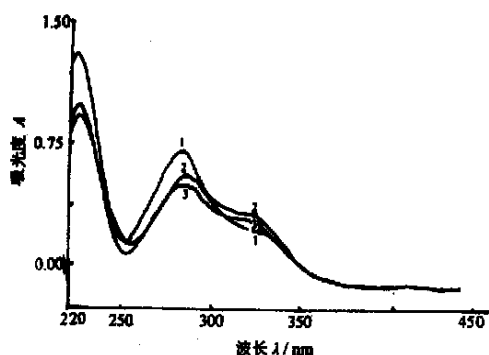


推测新工艺提取的血竭中含黄酮或甾类成分低于传统工艺中的含量,与薄层色谱中看到的紫檀含量较低结果一致。



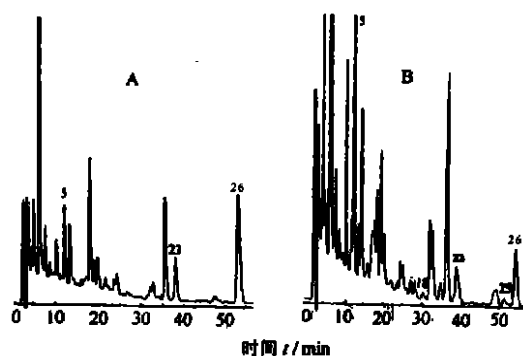
1 新工艺血竭 2 芒果牌血竭 3 束龙牌血竭

图 2 3种血竭的紫外光谱图

2.5 高效液相色谱^[2]: 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¹, 孙秀梅², 张兆旺^{2*}

(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_A、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

Comparison of SHENFU DECOCTION^{*} components extracted by four methods

XIU Yan-feng¹, SUN Xiu-mei², ZHANG Zhao-wang²

(1. Department of Pharmacy, College of Chinese Materia Medica, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China;

2. Department of Pharmacy, College of Chinese Materia Medica, Shandong University of TCM, Jinan 250014, China)

Abstract Object To evaluate the extract technology of SHENFU DECOCTION (SFD) components.

Methods Four methods— the semi-bionic extraction (SBE), the water extraction (WE), the semi-bionic extraction by precipitation with alcohol (SBAE), and the water extraction by precipitation with alcohol (WAE) were used to extract SFD, by taking panaxadiol, panaxitriol, total alkaloid of aconite, aconitine, tanshinone II_A, protocatechn aldehyde, total sugar and dried extract as the markers and to compare and study the four methods under the same conditions of drug granularity, solvent amount, decocting temperature, filtration, concentration, etc. **Results** Through the comprehensive evaluation of the eight markers, the comprehensive values Y were SBE> WE> SBAE> WAE. **Conclusion** SBE method is better than the other three methods in the extraction of SFD components.

Key words SHENFU DECOCTION (SFD); marker components; extraction method

^{*} SHENFU DECOCTION consists of *Radix Ginseng*, *Radix Aconiti Lateralis Preparata* and *Herba Leonuri*.

参附汤由人参、附子、丹参组成。为选择其提取工艺,本实验以人参二醇、人参三醇、总生物碱、酯型生物碱、丹参酮II_A、原儿茶醛、总糖、干浸膏为指标,根据半仿生提取(SBE)法理论^[1~4],在用均匀设计优选SBE法条件、药材组合方式及最佳醇沉浓度的基础上,比较该方药4种方法提取液的成分。

1 仪器与药品

pHS-3C型精密pH计(上海雷磁仪器厂); MA110型电子分析天平(上海第二天平仪器厂); 721-100型分光光度计(上海第三分析仪器厂); CS-930型薄层扫描仪(日本岛津); LXJH型离心沉淀机(上海医疗器械三厂); Beckman高效液相色谱仪(美国贝克曼仪器公司)。

药材经张兆旺教授鉴定,人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根;附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 子根的加工品;丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎。

人参二醇、人参三醇、乌头碱、丹参酮II_A、原儿茶醛对照品均购自中国药品生物制品检定所,其他试剂均为分析纯。

2 4种方法提取液的制备

2.1 SBE液:按处方比例称取10~24目的药材粗粉人参56g、附子42g、丹参42g,人参与附子混匀加热回流提取3次,加水量分别为药材量的10、6、6倍,pH值分别为2.0、6.5、9.0,提取时间依次为4、2、1h,提取液用4层纱布加100目筛,分别滤过,离心(2000 r/min, 20 min),合并上清液,得I液;丹参单独加热回流提取3次,操作条件同上,得II液;

将I液和II液混合,平均分成两份,分别浓缩。一份浓缩至500 mL,作为SBE液;另一份浓缩至175 mL,供制半仿生提取醇沉(SBAE)液使用。

2.2 SBAE液:取2.1项下另一份浓缩液175 mL,加乙醇使含醇量达80%,静置冷藏24 h,离心,上清液回收乙醇后,定容至500 mL。

2.3 水提取(WE)液:按2.1项下方法,只改用中性水提取,一份定容至500 mL作为WE液,另一份浓缩至175 mL,供水提醇沉(WAE)液使用。

2.4 WAE液:取2.3项下另一份浓缩液175 mL,按2.2项下方法制得WAE液。

3 成分的含量测定

3.1 人参二醇、人参三醇、总生物碱、酯型生物碱的含量测定:按文献方法^[5],依法测定,结果见表1。

3.2 丹参酮II_A的含量测定

3.2.1 色谱条件:色谱柱:Shim-pack ODS C₁₈柱(6.0 mm×150 mm);流动相:甲醇-水(77:23);检测波长:270 nm;流速:1.0 mL/min;进样体积:20 μL。

3.2.2 标准曲线的制备:精密称取丹参酮II_A对照品2.3 mg,用氯仿定容于2 mL容量瓶中,精取对照液1.0、2.0、4.0、8.0、12.0 μL于干燥容量瓶中,加氯仿至300 μL,混匀。吸取20 μL进样,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标作图,得一过原点的直线,丹参酮II_A在0.077~0.920 μg内进样量与峰面积呈良好线性关系,回归方程 $Y = 166198.919X + 4413.247$, $r = 0.9994$ 。

3.2.3 含量测定:精取以上4种提取液各50 mL,分别用氯仿萃取4次(25、20、15、10 mL),合并萃取液,回收溶剂至干,转移于1 mL容量瓶中,定容。经

微孔滤膜滤过,进样 20 μ L,采用外标两点法,计算丹参酮II_A的含量,结果见表 1

3.3 原儿茶醛的含量测定

3.3.1 溶液的制备:精取以上 4 种提取液各 50 mL,分别用 0.1 mol/L 盐酸调至 pH 1.00,用乙醚萃取 4 次(25, 20, 15, 10 mL),萃取液回收乙醚近干,残渣用无水乙醇转移并定容至 2 mL,得供试液。精密称取原儿茶醛对照品 2.3 mg,用无水乙醇溶解并定容至 2 mL,得对照液。

3.3.2 薄层扫描条件: $\lambda_s=310$ nm, $\lambda_R=225$ nm;灵敏度:中; $S_X=3$;狭缝 1.2 mm $\times$ 1.2 mm;双波长反射式锯齿扫描。

3.3.3 标准曲线的制备及含量测定:在 0.3% CM C-Na 硅胶 G 薄层板上,分别点原儿茶醛对照液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 μ L,以氯仿-丙酮-甲醇(8:1:1)为展开剂,展开,挥干溶剂,扫描。以点样量为横坐标,峰面积为纵坐标作图,得一不过原点的直线,原儿茶醛在 0.575~3.45 μ g 与峰面积呈良好的线性关系,回归方程 $Y=36551.516X-8985.989$, $r=0.9998$ 。精取供试液 10 μ L 及原儿茶醛对照液 1.0, 2.0 μ L,分别点于同一薄层板上,展开,扫描,结果见表 1。

3.4 总糖的含量和干浸膏的测定:按文献方法^[5]测定,结果见表 1。

表 1 4 种提取液中各成分的含量测定结果

提取液	人参二醇 (mg/100 g)	人参三醇 (mg/100 g)	总生物碱 (g/100 g)	酯型生物碱 (g/100 g)	丹参酮II _A (mg/100 g)	原儿茶醛 (mg/100 g)	总糖 (g/100 g)	干浸膏 (g/100 g)
SBE	10.859 3	14.932 8	0.144 3	0.019 3	0.625 6	0.157 3	13.981 0	41.252 4
WE	9.229 8	13.530 8	0.122 2	0.017 5	0.448 1	0.125 3	10.928 6	34.676 2
SBAE	6.180 0	8.761 2	0.106 5	0.009 2	0.333 6	0.095 2	0.734 6	24.742 9
WAE	5.541 8	7.992 7	0.098 3	0.007 6	0.224 8	0.068 0	0.621 4	19.281 0

4 4 种方法的综合评价

将人参二醇、人参三醇、总生物碱、酯型生物碱、丹参酮II_A、原儿茶醛、总糖、干浸膏 8 个指标各数据按下列公式进行标准化处理:

$$x'_{i,j} = \frac{x_{i,j} - \bar{x}_j}{S_j}$$

式中 $x_{i,j}$ 为提取液 i 中成分 j 的含量, $\bar{x}_j$ 为 4 种提取液 i 中成分 j 的平均值, S_j 为成分 j 的标准偏差,即 $S_j =$

$$\sqrt{\frac{\sum (x_{i,j} - \bar{x}_j)^2}{n-1}}, x'_{i,j} \text{ 为标准化后的值}$$

分别将 $x'_{i,j}$ 加权后求和,即得综合评价指标 Y 值。其关系式: $Y = (\text{人参二醇} + \text{人参三醇} + \text{总生物碱} - \text{酯型生物碱} + \text{丹参酮II}_A + \text{原儿茶醛}) \times 6 + \text{总糖} \times 4 + \text{干浸膏} \times 2$, 结果见表 2。4 种方法 Y 值大小顺序为 SBE > WE > SBAE > WAE。

表 2 4 种提取液中各成分标准化结果

提取液	人参二醇	人参三醇	总生物碱	酯型生物碱	丹参酮II _A	原儿茶醛	总糖	干浸膏	Y
SBE	1.153 9	1.053 9	1.307 8	1.006 8	1.270 0	1.190 9	1.072 6	1.143 7	36.396 0
WE	0.507 0	0.646 7	0.215 9	0.699 7	0.233 9	0.359 7	0.631 0	0.476 0	11.057 0
SBAE	-0.703 7	-0.738 7	-0.559 8	-0.716 7	-0.434 5	-0.422 1	-0.843 6	-0.532 6	-17.292 2
WAE	-0.957 2	-0.961 9	-0.964 9	-0.989 8	-1.069 5	-1.128 6	-0.860 0	-1.087 1	-30.168 0

5 讨论

5.1 以人参二醇、人参三醇、总生物碱、酯型生物碱、丹参酮II_A、原儿茶醛、总糖、干浸膏为指标,对参附汤的 4 种方法提取液进行比较,根据 SBE 法理论和附子炮制原理,确定 Y 的关系式,综合评价指标 Y 值: SBE > WE > SBAE > WAE。本实验又一次提示: SBE 法有可能代替 WE 法, SBAE 法有可能代替 WAE 法,进一步验证了 SBE 法的科学性和可行性。

5.2 中医用药绝不只是单体成分,而是多种成分综合作用的结果,这种综合作用从化学成分方面考虑可能是同一中药共存成分之间和 或多种中药共存成分之间的复合作用,根据 SBE 法理论和附子炮制的原理,以人参二醇、人参三醇、总生物碱、酯型生物

碱、丹参酮II_A、原儿茶醛、总糖、干浸膏为指标。同时,根据各指标在工艺选择中的主次,给予不同的加权系数,确定综合评价 Y 的关系式: $Y = (\text{人参二醇} + \text{人参三醇} + \text{总生物碱} - \text{酯型生物碱} + \text{丹参酮II}_A + \text{原儿茶醛}) \times 6 + \text{总糖} \times 4 + \text{干浸膏} \times 2$ 。对 8 个指标的数据进行标准化处理,以消除各指标的单位 and 量纲不同及各指标数值不同所造成的影响,以标准化指标加权后求和作为综合指标 Y ,优选出 SBE 法较佳条件,这样更加科学、合理。

参考文献:

- [1] 张兆旺,孙秀梅.试论“半仿生提取法”制备中药口服制剂[J].中国中药杂志,1995,20(11):670-673.
- [2] 张瑞亭,张兆旺,孙秀梅.思维方式的转换与中药“半仿生提取法”[J].中国中药杂志,1997,22(9):542-544.
- [3] 张兆旺,孙秀梅.“半仿生提取法”的特点与应用[J].世界科学

技术·中药现代化, 2000, 2(1): 35-38.

[4] 张兆旺, 孙秀梅. 中药方剂药效物质提取新技术—“半仿生提取模式”的初探 [J]. 世界科学技术·中药现代化, 2000, 2(5): 5-

10.

[5] 张兆旺, 修彦凤, 孙秀梅. 用均匀设计优选参附汤的半仿生提取法工艺条件 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(6): 345-347.

双水相体系萃取甘草酸盐的研究

林 强, 霍 清*

(北京联合大学化学工程学院, 北京 100023)

摘 要: 目的 研究从甘草中提取甘草酸盐的新工艺。方法 采用与水互溶的有机溶剂的新型双水相体系萃取。结果 提取甘草酸盐的最佳溶剂为乙醇-磷酸氢二钾双水相体系, 此体系的两相分配完全, 分配系数达 12.8, 收率为 98.3%。结论 此方法简单易行, 是从甘草提取液中制备甘草酸单铵盐的新工艺。

关键词: 有机溶剂; 双水相萃取体系; 甘草酸单铵盐

中图分类号: R284.02; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2002)08-0702-03

Separation of glycyrrhetate by aqueous two-phase extraction system

LIN Qiang, HUO Qing

(College of Chemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023, China)

Key words organic solvents; aqueous two-phase extraction system; glycyrrhetate

近年, 双水相萃取 (Aqueous Two-phase, ATP) 技术因设备投资少, 操作简单, 引起了人们极大的重视, 并且被广泛用于生物化学、细胞生物学和生物化工等领域。该类双水相体系多为聚乙二醇、葡萄糖和聚乙二醇/无机盐两种^[1]。但水溶性聚合物形成的双水相萃取体系存在着粘度高、分析困难及需要反萃取。事实上, 普通的能与水互溶的有机溶剂在无机盐的存在下也可形成双水相体系^[2]。基于与水互溶的有机溶剂和盐水相的双水相萃取体系具有价廉、低毒、较易挥发等特点, 本实验根据对双水相体系中不同种类盐分相能力及不同种类有机溶剂的分相情况开展研究, 并应用于甘草提取主要成分甘草酸中, 确定乙醇-磷酸氢二钾双水相体系萃取甘草有效成分的工艺。

1 试剂与仪器

试剂均为分析纯。甘草酸单铵盐 (呼和浩特制药厂, 纯度 $\geq 98\%$), 甘草饮片 (北京同仁堂股份公司饮片厂出品), 800型离心沉淀器 (4 000 r/min, 上海医用器械十厂); 721紫外可见分光光度计 (北京瑞利分析仪器厂)。

2 实验方法

2.1 双水相体系的配制: 双水相体系按体积配制, 各组分浓度用毫升数表示, 系统总量为 10 mL, 置于

10 mL离心试管中, 加入一定体积的有机溶剂, 加水至 10 mL, 再加入一定量的盐, 甘草酸单铵盐加入量为 0.2 g。振荡 2 min, 放置片刻, 待溶液分相完全, 以 2 000 r/min离心 5 min, 读取上下相体系, 分别取样分析上下相中甘草酸单铵盐的含量。

相比 $R = V_t / V_b$, V_t 、 V_b 分别是上、下相体积

分配系数 $K = C_t / C_b$, C_t 、 C_b 分别是上、下相甘草酸单铵盐的浓度

收率 $Y = 1 / (1 + 1/RK)$

2.2 甘草浓缩液的制备: 将甘草粗粉 (40目左右), 加入少量氨水, 浸泡, 100℃煎煮 30 min后, 过滤, 滤液浓缩至 1/3, 得甘草浓缩液, 低温保存备用。

2.3 利用双水相乙醇-磷酸氢二钾体系从甘草中提取甘草酸: 称取 1.5 g磷酸氢二钾溶于 4 mL甘草浓缩液中, 搅拌使溶解, 并与 6 mL无水乙醇混合, 倒入 10 mL的离心试管中, 以 2 000 r/min离心 3 min, 形成两相, 用分液漏斗将两相分开, 分别向两相中缓慢逐滴加入浓硫酸, 析出大量甘草酸沉淀 ($pH=2$), 停止加酸。放在冰水浴中冷却 10 min, 使沉淀完全析出, 用无水乙醇洗涤沉淀, 称量并记录数据。

2.4 分析方法: 甘草酸单铵盐的含量测定采用紫外可见分光光度计在 253 nm下测定^[4]。