

液。精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL, 进样, 测定, 结果见表 1。根据结果, 暂定本品以干燥品计, 含东莨菪碱不得少于 60 μg/g。

表 1 复方黄芪胶囊中东莨菪碱的测定结果 (n=5)

Table 1 Scopolamine in Compound Huangqi Capsule (n=5)

批号	东莨菪碱/(μg·g ⁻¹)	RSD/%
020418	81.97	3.27
020419	77.11	2.36
020420	78.77	2.93

3 讨论

东莨菪碱为本品君药之一洋金花的有效成分, 既

是效应物质, 又有一定的毒副作用, 因此需要对其定量。东莨菪碱在酸性条件下解离成阳离子, 在反相柱上保留时间短, 峰形不好, 而采用反相离子对色谱法可以克服保留时间短、分离差、峰拖尾严重等缺点, 达到调整保留时间, 提高分离度, 改善峰形的目的。

References:

[1] He Z J, He Z H. Determination of scopolamine in *Flos Datuarae* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19 (3), 174-176.
 [2] Bian J, Cai D G. Determination of scopolamine and strychnine in Jinma Tongluo Capsules by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20 (1): 48-50.

桑白皮中总黄酮提取工艺研究

张国刚^{1,2}, 黎琼红², 李乐道², 张红霞², 普曼华³, 阎泉香⁴

(1. 复旦大学药学院, 上海 200032; 2. 沈阳药科大学 天然药物化学教研室, 辽宁 沈阳 110016; 3. 沈阳军区总医院, 辽宁 沈阳 110015; 4. 沈阳广播电视大学, 辽宁 沈阳 110003)

桑白皮是桑科桑属植物桑 *Morus alba* L. 的干燥根皮, 有泻肺平喘、利水消肿之功效, 民间常用于消炎、利尿、解热、镇咳祛痰等。药理研究表明桑白皮有降压、抗癌、抗病毒等作用。常见的桑属植物桑、华桑、鸡桑、蒙桑、黑桑等的枝、叶、根均可入药。桑属植物的化学成分类似, 主要含有黄酮类化合物, 包括桑酮、桑酮醇、桑根酮、桑根酮醇、桑素、桑皮根素等^[1]。为有效开发和充分利用桑白皮, 本实验采用均匀设计方法对其提取工艺进行了研究。

1 材料与仪器

桑白皮药材购自沈阳博康大药房, 经鉴定为桑科桑属植物桑 *M. alba* L. 的干燥根皮。

UV-200 紫外可见分光光度计(尤尼柯(上海)有限公司); 1/10 万电子分析天平(日本岛津公司); 超声振荡仪(中船七院七二六所超声仪器厂); 色谱用聚酰胺(台州市路桥四甲生化塑料厂)。

2 方法与结果

2.1 提取工艺: 将桑白皮 100 g 加入一定量的水, 煎煮一定时间, 滤过。将滤渣加入一定量的水, 煎煮一定时间, 滤过。合并两次水煎液, 再滤过, 滤液通过 30~60 目聚酰胺色谱柱, 用 2 倍保留体积的水洗脱, 然后依次用一定保留体积的乙醇洗脱, 收集乙醇洗脱液。回收乙醇, 得桑白皮总黄酮提取物。

2.2 均匀设计^[2]: 由于采用聚酰胺来分离总黄酮, 因此, 药材提取时加水量(药材倍数)、煎煮时间、聚酰胺用量(干重, 药材倍数)、乙醇洗脱体积分数及用量(柱保留体积数)都能影响总黄酮的收率, 因此选择作为因素考察。按提取工艺, 将影响提取率的 5 个因素分成 5 个水平按均匀设计法进行提取工艺筛选。由于没有 U₁₀(10⁵)表, 所以选用 U₁₁(11¹⁰)表。因为只有 5 因素, 因此, 换算成 U₁₀(10⁵)表。U₁₀(10⁵)表是将 U₁₁(11¹⁰)表的最后一行去掉所得。所得 U₁₀(10⁵)均匀设计统计表及相应的结果见表 1。

表 1 U₁₀(10⁵)均匀设计试验结果

Table 1 Results of U₁₀(10⁵) uniform design

试验号	加水量 X1/倍	煎煮时间 X2/h	聚酰胺用量 X3/倍	乙醇体积分数 X4/%	乙醇用量 X5/倍	收率/%	总黄酮收率/%	总黄酮/g
1	1(8)	2(1.5)	3(0.75)	5(100)	7(3)	4.03	17.13	0.69
2	2(10)	4(2.5)	6(0.25)	10(100)	3(4)	2.30	21.32	0.49
3	3(12)	6(1.0)	9(1.0)	4(80)	10(6)	3.82	34.86	1.33
4	4(14)	8(2.0)	1(0.25)	9(80)	6(2)	1.58	13.28	0.21
5	5(16)	10(3.0)	4(1.0)	3(60)	2(3)	9.78	9.00	0.61
6	6(8)	1(1.0)	7(0.5)	8(60)	9(5)	3.88	22.97	0.89
7	7(10)	3(2.0)	10(1.25)	2(40)	5(6)	19.97	6.01	1.20
8	8(12)	5(3.0)	2(0.5)	7(40)	1(2)	4.80	8.95	0.43
9	9(14)	7(1.5)	5(1.25)	1(20)	8(4)	19.04	4.99	0.95
10	10(16)	9(2.5)	8(0.75)	6(20)	4(5)	41.14	2.99	1.25

依据上述提取条件进行 10 次试验, 得到 10 组

(下转第 1727 页)

收稿日期: 2005-01-18

作者简介: 张国刚(1965—), 男, 辽宁沈阳市人, 副教授, 博士, 复旦大学在职博士后, 主要从事天然产物化学研究和抗病毒中药研究。

Tel: (024) 23986511 E-mail: zggh@163.com zhangguogang@hotmail.com

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液(0.24 mg/mL),连续进样 5 次,记录环维黄杨星 D 峰面积,计算其 RSD 为 0.8%(n=5)。

2.6 重现性试验:精密称取同一批黄杨木粗粉 5 份,按 2.3 项方法平行制备 5 份供试品溶液,分别进样 20 μL,用峰面积按外标法计算环维黄杨星 D 的量,RSD 为 1.5%(n=5)。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12 和 24 h 进样 20 μL,记录色谱图,结果环维黄杨星 D 峰面积 RSD 为 1.1%,表明在 24 h 内溶液稳定。

2.8 加样回收率:取已知量(1.04 mg/g)的黄杨木粗粉约 2.5 g,精密称定,共 9 份,分别加入环维黄杨星 D 对照品 1.24、2.48、3.72 mg(取 1.2 mg/mL 的储备液 1.0、2.0、3.0 mL 加入)各 3 份,按 2.3 项方法制备供试品溶液,分别进样测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.12%,RSD 为 1.18%。

2.9 样品测定:取 3 批黄杨木样品,制备供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL,进样测定,记录色谱图,用峰面积按外标法计算,结果见表 1。

3 讨论

(上接第 1662 页)

桑白皮总提取物,按公式:收率=提取物质量/药材质量×100%,计算其收率。总黄酮的测定按照本课题组制定方法(另文报道),测定提取物中总黄酮的质量分数,计算总黄酮的实际得量,总黄酮得量=提取物质量×总黄酮的质量分数。经综合分析:以实际提取物中相当于总黄酮的质量为考察结果,用统计分析软件 SPSS 计算多元回归方程,找出加水量、煎煮时间、聚酰胺用量、乙醇洗脱体积分数和乙醇用量 5 种因素与提取得到总黄酮的质量(Y)之间的关系。结果 $Y=0.329 X_3+0.188 X_5-0.198$, $r=0.948$ 。可见 X_3 、 X_5 前的系数为正数,表明聚酰胺用量、乙醇用量与综合评分呈正相关。考虑到在具体的 10 组试验中 3 号条件下提取得到的总黄酮的质量分数是最高的,同时也考虑到能效的关系。因此,综合分析选择 3 号试验中的各个试验条件基本为最佳选择,同时适当增加药材的煎煮时间,从而得到本试验中的最佳提取工艺即桑白皮 100 g,加 12 倍量的水浸泡并煎煮 1.5 h,滤过,药渣再加 10 倍量水煎煮 1 h,滤过,合并两次水提取液,通过 100 g 的 30~60 目聚酰胺色谱柱,用 2 个保留体积的水洗脱,然后用 6

表 1 3 批黄杨木中环维黄杨星 D 的测定结果(n=3)
Table 1 Determination of cyclovirobuxium D in three batches of *B. microphylla* (n=3)

批号	环维黄杨星 D/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	1.04	1.5
2	1.13	1.7
3	1.01	1.0

《中国药典》(2005 年版)分别采用非水滴定法和酸性染料比色法测定环维黄杨星 D 原料及制剂的量,测定的是总生物碱,专属性差。由于环维黄杨星 D 结构不含双键,笔者曾采用 HPLC-ELSD 检测,但受检测器对流动相的限制,未能获得理想的色谱系统,色谱峰拖尾严重。经在流动相中加入离子对试剂,在末端吸收 203 nm 处直接进行紫外检测,色谱条件分离效果良好,色谱峰形对称。

在供试品溶液的制备过程中,曾对甲醇、酸性乙醇、氯仿、石油醚等不同溶媒,超声、回流、索氏提取等不同提取方法进行比较,最终确定碱性条件下氯仿加热回流提取为最佳条件,提取效率高、且干扰少。

Reference:

- [1] Liang B W, Deng C A, Wang X B, et al. Isolation and structural elucidation of *Buxus* alkaloids I, II, III, IV [J]. *Chin Pharm Bull* (药学通报), 1981, 16(4): 3-5.

个保留体积的 80%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,回收乙醇,得桑白皮总黄酮提取物。

按优选方案安排试验,验证 5 批,桑白皮总黄酮的提取率、总黄酮的质量结果见表 2。

表 2 桑白皮样品总黄酮的提取结果
Table 2 Results of total flavonoids in *M. alba*

批号	提取率/%	总黄酮/%	总黄酮质量/g
1	4.38	35.43	1.55
2	3.89	34.32	1.34
3	4.02	35.86	1.44
4	3.67	37.28	1.37
5	3.78	35.65	1.35

3 讨论

本实验采用均匀设计法安排试验进行优选,利用多元回归分析确定了桑白皮总黄酮的最佳提取工艺参数,可以为桑白皮总黄酮工业化生产条件提供参考。

References:

- [1] Li J H, Zhang G G, Dong S H. The advancement in the chemical and pharmacological study of *Morus* [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20 (5): 386-390.
[2] Zeng Z J. *Uniformity Design and Application* (均匀设计及其应用) [M]. Shenyang: Liaoning People's Publishing House, 1994.