重楼提取工艺的研究

兰 洁，杨 明，马家骅
（成都中医药大学药学院，四川 成都 611731）

重楼为百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz. 或七叶一枝花 *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的干燥根茎，具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效[1]。其药用历史悠久，以蚤休之名首载于《神农本草经》，味辛、苦、微辣、性微寒，主要用于各种疮毒、痈疽、发背痘疔、蛇毒等。现代药理研究表明重楼具止血、抗肿瘤、免疫调节、心血管作用等广泛的药理活性[2]。重楼的化学成分以甾体类物质为主，其中甾体皂苷是其主要有效成分。由于甾体皂苷不易溶于水，易溶于乙醇，故选用乙醇进行提取。本实验比较了浸渍、超声、回流 3 种不同提取方法，采用 $L_9(3^4)$ 正交设计，以重楼皂苷 Ⅰ、重楼皂苷 Ⅱ 的总量为考察指标，对影响重楼醇提取工艺的因素水平进行研究，优选出最佳提取工艺条件。

1 仪器与试药

岛津高效液相色谱仪，浙大 N2000 色谱工作站；重楼饮片购自四川省中药饮片责任有限公司，经成都中医药大学生药教研室卢先明教授鉴定为七叶一枝花的干燥根茎。重楼皂苷 Ⅰ、Ⅱ 对照品（中国药品生物制品检定所提供，批号 111590-200402，111591-200402）。水为重蒸馏水，乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 重楼皂苷 Ⅰ、Ⅱ 的测定[1]

2.1.1 色谱条件：Kromasil ODS-1 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm），流动相：乙腈-水（44∶56），检测波长：210 nm，柱温：40 ℃。

2.1.2 对照品溶液的制备：取重楼皂苷 Ⅰ 和重楼皂苷 Ⅱ 对照品各 1 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解，并稀释至刻度，摇匀，即得。

2.1.3 供试品溶液的制备：取重楼醇提取液，用微孔滤膜（0.45 μm）滤过，取续滤液，即得。

2.1.4 测定法：分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL，分别注入高效液相色谱仪，测定重楼皂苷 Ⅰ、Ⅱ 的质量分数。色谱图见图 1。

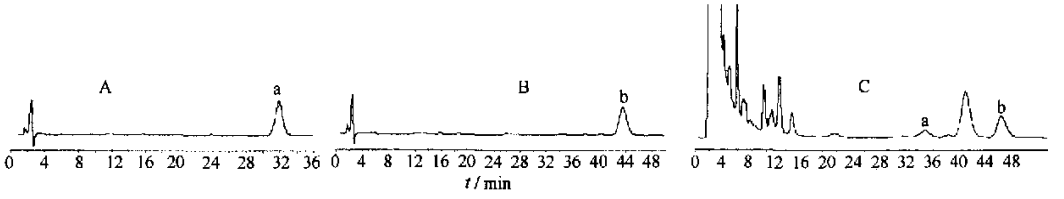
2.2 提取方法的比较

2.2.1 浸渍法：取重楼饮片 50 g，用 95% 乙醇 500 mL 浸渍 24 h，时时振摇，滤过，滤液用 95% 乙醇定容至 500 mL。

2.2.2 超声法：取重楼饮片 50 g，用 95% 乙醇 500 mL 超声处理（功率 250 W，频率 33 kHz）30 min，放冷，滤过，滤液用 95% 乙醇定容至 500 mL。

2.2.3 加热回流法：取重楼饮片 50 g，加 95% 乙醇 250 mL，回流提取 2 次，每次 2 h，合并提取液，滤过，滤液用 95% 乙醇定容至 500 mL。

2.2.4 结果比较：取 3 种提取液，分别测定重楼皂苷 Ⅰ、Ⅱ 的质量分数，结果浸渍法、超声法和回流法



a-重楼皂苷 Ⅰ b-重楼皂苷 Ⅱ
a-polyphyllin Ⅰ b-polyphyllin Ⅱ

图 1 重楼皂苷对照品 Ⅰ (A)、Ⅱ (B) 和重楼醇提取液 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of polyphyllins Ⅰ and Ⅱ reference substances (A and B) and ethanolic extracted-liquid of *Rhizoma Paridis* (C)

收稿日期：2005-10-09
作者简介：兰 洁（1982—），女，四川崇州人，在读硕士生，研究方向为新技术和新剂型的研究。
Tel：(028) 87825696 E-mail：jane_blue77@yahoo.com.cn

中所得重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ总和的质量分数分别为0.356%、1.287%、1.412%。可知，3种提取方法中，加热回流法提取所得重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ的质量分数最高，超声法次之，浸渍法最低，故宜选用加热回流法对重楼饮片进行提取。

2.3 乙醇回流提取工艺条件优选：参考有关重楼有效成分的提取工艺的文献资料结合预试验结果，影响乙醇加热回流法提取重楼有效成分的主要因素有提取时间(A)、提取次数(B)、乙醇体积分数(C)，因素水平见表1。以重楼皂苷Ⅰ、重楼皂苷Ⅱ总量为指标，称取重楼饮片50 g，共9份，分别加入12倍量乙醇，按$L_9(3^4)$正交表进行试验，结果见表2，方差分析见表3。

表1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A/h	B/次	C/%
1	1	1	30
2	1.5	2	50
3	2	3	70

方差分析结果表明，A、B因素影响无显著性差异，C因素有显著性差异，结合直观分析以$A_3B_3C_3$为佳，即：70%乙醇提取3次，每次2 h。

2.4 验证试验：称取重楼饮片50 g，按优选出来的最佳提取工艺$A_3B_3C_3$进行验证，结果重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ总量为1.192%，RSD为2.24% ($n=3$)，表明该提取工艺稳定可行，重现性好。

3 讨论

重楼主要有效成分为甾体皂苷，水溶性较差。关于提取工艺研究方面的文献报道很少，本实验采用正交试验，对影响重楼皂苷醇提工艺的各种因素进行考察，优选出最佳提取工艺条件，对实际生产有一定的指导意义。

表2 $L_9(3^4)$正交试验结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	空白	重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ总量/%
1	1	1	1	1	0.204
2	1	2	2	2	0.583
3	1	3	3	3	1.097
4	2	1	2	3	0.489
5	2	2	3	1	0.902
6	2	3	1	2	0.605
7	3	1	3	2	0.906
8	3	2	1	3	0.608
9	3	3	2	1	0.824
K_1	1.884	1.599	1.417	1.930	
K_2	1.996	2.093	1.896	2.094	
K_3	2.338	2.526	2.905	2.194	
R	0.454	0.927	1.488	0.264	

表3 方差分析

Table 3 Variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P
A	0.037 29	2	0.018 65	3.148 68	0.241 04
B	0.143 43	2	0.071 71	12.110 23	0.076 28
C	0.384 63	2	0.192 31	32.475 85	0.029 87
误差	0.011 84	2	0.005 92		

$F_{0.05}(2,2)=19.0$ $F_{0.01}(2,2)=99.0$

References:

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1, 2005.

[2] Bian H R, Li X N, Wang H M, *et al*. The research and development of *Rhizoma Paridis* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25 (3): 218-219.

枸杞多糖的组成及结构分析

朱彩平[1]，张 民[2]，张声华[1]

(1. 华中农业大学食品科技学院，湖北 武汉 430070；2. 天津科技大学食品科学与生物工程学院，天津 300222)

枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharides，LBP)是枸杞中的主要功能活性成分。许多研究者都从枸杞中采用不同的方法得到了多糖[1~3]。本实验采用Sephadex G-75对枸杞多糖粗品进行了纯化，并直接以水提取，简化了提取工艺，减少了有机溶剂的使用，得到色泽白且溶解性好的多糖，并对其组成及结构特点进行了研究。

1 材料、仪器与方法

Philips HR 1375/A型打浆机；BSZ—100自动分步收集器(上海沪西仪器厂)，HL—2电脑恒流泵(上海沪西仪器厂)；岛津UV—265FW紫外可见分光光度计；LD4—2A型低速离心机(北京医用离心

收稿日期：2005-10-17
基金项目：湖北省自然科学基金资助项目(95J25)
作者简介：朱彩平(1979—)，女，博士。