

表 2 三七不同炮制品中主要皂苷类成分的相对质量分数对比

Table 2 Comparison of relative saponins in different processed products of *P. notoginseng*

序号	样品	R _{G1} /R ₁	R _{b1} /R ₁	R _{b1} /R _{G1}
1	生品	2.9	3.2	1.1
2	油炸品	4.1	4.3	1.1
3	黑豆汁蒸 7 h	3.8	4.0	1.1
4	常压蒸 4 h	5.6	5.7	1.0
5	常压蒸 8.5 h	6.5	6.9	1.0
6	105 °C 蒸 1.5 h	5.2	6.1	1.2
7	110 °C 蒸 2 h	6.4	8.3	1.3

部分色谱峰得到基线分离,并且得到的色谱峰形较好,结果较为稳定。

实验结果显示,经炮制后三七中主要皂苷类成分三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{G1} 及 R_{b1} 的量均有不同程度降低,但炮制后人参皂苷 R_{G1} 及 R_{b1} 相对质量分数增加。其中高温高压蒸制(如 105 °C 蒸制 1.5 h 及 110 °C 蒸 2 h)或常压蒸制时间越长(如常压蒸制 8.5 h),主要皂苷类成分的量降低越多;但用油炸或黑豆汁蒸制的炮制法皂苷类成分的量降低相对较少。

将不同三七炮制品的 HPLC 图谱与未经炮制

的三七生品的 HPLC 图谱进行比较,可见油炸、黑豆汁蒸制 7 h、常压蒸制 4 h 的三七炮制品的 HPLC 图谱多出了 2 个小峰;而 105 °C 蒸制 1.5 h 的三七炮制品的 HPLC 图谱比三七生品的 HPLC 图谱多出了 3 个小峰,其色谱图与其他炮制品的图谱相比也有较大差别。这些成分的产生以及蒸制后皂苷类成分的变化与药效学实验结果证实其具有最佳补血强身作用,三七炮制条件及传统中医认为的三七“生撵熟补”之说可能存在一定的联系,待进一步探讨。

References:

[1] Liu J H, Wang X, Cai S Q, et al. Analysis of the constituents in the Chinese drug notoginseng by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *J Chin Pharm Sci* (中国药学), 2004, 13 (4): 225-236.
 [2] Wu K Y, Chen B E, Zhao B T. *Pivotal Technology of Cultivating Chinese Medicinal Materials* (中药材种养关键技术丛书) [M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House, 2001.
 [3] Tian H Y, Qu X Y, Xiong P H. *The Experience Integrated for Process of Chinese Ethical Herb* (中国民族药炮制集成) [M]. Beijing: Chinese Ancient Books Publishing House, 2000.
 [4] Ye D J. *Chinese Materia Medica Processing* (中药炮制学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1996.

正交设计优选罗布麻叶中总黄酮提取工艺

杨志芳^{1,3}, 王维娜², 杨 坤³, 吴琳琳², 杨新波⁴, 黄正明^{3*}

(1. 军事医学科学院, 北京 100850; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100850; 3. 中国人民解放军 302 医院药学部, 北京 100039; 4. 中国人民解放军总医院老年医学研究所, 北京 100853)

罗布麻 *Apocynum venetum* L. 为夹竹桃科植物, 又名红麻, 是生长在盐碱沙荒地区的野生植物。我国罗布麻的资源非常丰富, 用罗布麻叶作茶饮及药用有悠久的历史。《中国药典》2005 年版也有记载: “平肝安神, 清热利水, 用于肝阳眩晕, 心悸失眠, 浮肿尿少, 高血压, 神经衰弱, 肾炎浮肿”。现代药理学研究认为其可预防和治疗老年高血压、感冒、气管炎, 对增强机体抗病能力有一定的作用, 为延年益寿, 养生之药^[1]。罗布麻叶中主要含有金丝桃苷、异槲皮素、槲皮素-3-O-槐糖苷、芸香苷、槲皮素等黄酮类成分^[2], 为进一步开发和利用野生植物资源, 本实验进行了罗布麻叶中总黄酮最佳提取工艺的研究。

1 仪器与试剂

罗布麻叶购于北京绿野药业公司, 经安徽天科药物研究所王先荣教授鉴定为夹竹桃科植物罗布麻叶 *A. venetum* L. 的干燥叶, 粉碎, 备用。芦丁对照品购于中国药品生物制品检定所(批号 0080-9705)。试剂均为分析纯。

FA—2004 电子天平(上海天平仪器厂), UV—3400 紫外分光光度计(日本日立公司), 752 型紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 因素及水平考察: 根据罗布麻总黄酮的理化性质, 选择提取次数、乙醇体积分数、提取时间和乙醇

收稿日期: 2005-12-08

作者简介: 杨志芳(1981—), 女, 山西朔州怀仁县人, 军事医学科学院硕士研究生, 研究方向为中药药理及新药研发。

E-mail: yangzif710@126.com

* 通讯作者 黄正明 Tel: (010) 66933233 E-mail: Huang_zhengming@sohu.com

用量 4 个因素,每个因素选择 3 个水平,设定因素水平表,见表 1。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A 乙醇体积分数/%	B 乙醇用量/倍	C 提取时间/h	D 次数/次
1	90	10	4	3
2	80	8	3	2
3	70	6	2	1

2.2 罗布麻总黄酮的测定

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取在 120 °C 减压干燥至恒重的芦丁对照品 50 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇适量,置水浴上微热,溶解,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取 10 mL,置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得(含无水芦丁 0.2 mg/mL)。

2.2.2 供试品溶液的制备:取正交试验所得提取液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,作供试品溶液,备用。

2.2.3 测定波长的选择:取供试品溶液 3 mL 和对照品溶液 3 mL,分别置分光光度仪上绘制吸收曲线,在 500 nm 处有最大吸收,测定波长为 500 nm。

2.2.4 标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 与 6.0 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,各加水至 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,用空白溶剂 6 mL 同法作空白,照分光光度法《中国药典》2005 年版一部附录 VA)在 500 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为 $A=0.4743C-0.0072$, $r=0.9998$ 。结果表明芦丁在 0.2~1.2 mg 与吸光度线性关系良好。

2.2.5 测定:精密吸取供试品溶液 3 mL,置 25 mL 量瓶中,照标准曲线制备项下的方法,自“各加水至 6 mL”起依法操作。以供试品溶液 3 mL 加水稀释至 25 mL 作空白,依法测定吸光度。从标准曲线上读出供试品溶液中芦丁的质量,计算,即得。

2.3 实验与结果:准确称取罗布麻叶,每份 50 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表设计方案进行试验,提取液稀释后作供试品溶液,进行测定,以测得罗布麻总黄酮为指标进行分析,结果及方差分析见表 2、3。

由 R 值可知,各因素对试验结果的重要次序为 $D>A>B>C$,由方差分析可知,提取次数对总黄酮

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

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

实验号	A	B	C	D	总黄酮得率/%
1	1	1	1	1	12.02
2	1	2	2	2	10.69
3	1	3	3	3	6.31
4	2	1	2	3	7.58
5	2	2	3	1	11.63
6	2	3	1	2	9.64
7	3	1	3	2	13.06
8	3	2	1	3	7.82
9	3	3	2	1	13.02
I	9.67	10.89	9.83	12.22	
II	9.62	10.05	10.43	11.13	
III	11.30	9.66	10.33	7.24	
R	1.68	1.23	0.60	4.99	

表 3 方差分析

Table 3 Variance analysis

来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	5.48	2	2.74	8.56	
B	2.37	2	1.19	3.72	
C(误差)	0.63	2	0.32		
D	41.22	2	20.61	64.41	$P<0.05$

$$F_{0.05}(2,2)=19, F_{0.01}(2,2)=99$$

得率有显著性影响,提取时间对总黄酮得率几乎没有影响,综合各种因素,选定罗布麻总黄酮提取工艺为 $A_3B_1C_3D_1$ 。

2.4 工艺验证试验:为考察上述优选提取工艺的稳定性,按该工艺条件进行重复试验 3 次,测定罗布麻总黄酮的得率,结果平均得率为 12.75%,RSD 为 2.16%,表明本实验制定的工艺路线稳定可靠。

3 讨论

3.1 通过 R 值可得最佳因素水平为 $A_3B_1C_2D_1$,但经方差分析 C 因素没有统计学意义,对试验结果的影响不大,考虑到大生产中经济、有效等方面的因素,优选工艺 $A_3B_1C_3D_1$,即用生药 10 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h。

3.2 本实验通过正交试验法对罗布麻的提取工艺条件进行了优化,并按最佳工艺进行了验证试验,结果证明用该工艺提取罗布麻总黄酮工艺简单、提取率高、操作控制容易、稳定性好,为罗布麻工业生产提供了合理依据。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典)[M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
[2] Wei J M. The review of the research of *Apocynum venetum* L. on medicine [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1986, 21 (12): 741.