

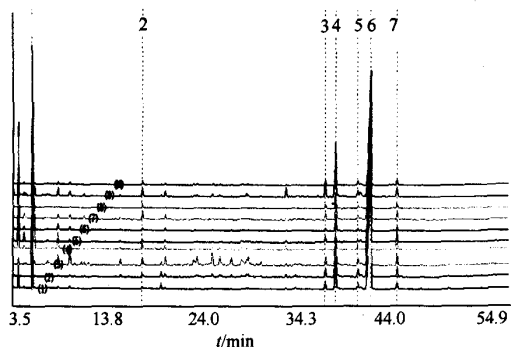


图 1 当归油的指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of volatile oil of *A. sinensis* from different areas

峰为(E)-蒿本内酯。这4种成分都属苯酐类化合物,是当归挥发油的主要活性成分。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S], Vol 1. 2005.
- [2] Liu L N, Mei Q B, Cheng J F. Advances in study on volatile oil of *Radix Angelica Sinensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 24 (8): 621-623.
- [3] Li G S, Ma C J, Liu Z F, et al. Extraction of essential oil from *Angelica sinensis* by supercritical- CO_2 fluid in comparison with that by steam distillation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (7): 581-583.
- [4] Li G S, Ma C J, Liu X Y, et al. The stability study of ligustilide and the GC-MS analysis of isomerization products [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (6): 405-407.
- [5] Zhou Y X. *Research on Fingerprint of Traditional Medicine* (中药指纹图谱研究) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [6] Chen N, Xue D Y. Studies on the SC-CO_2 extracted essential oil of *Radix Angelicae Sinensis* [J]. *J Gansu Edu Coll* (甘肃教育学院学报), 2003, 17 (4): 30-33.

炮制对五味子中木脂素的影响

殷放宙, 陆兔林, 蔡宝昌

(南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 比较五味子不同炮制品中木脂素的差别。方法 采用薄层色谱方法、紫外分光光度法、高效液相色谱法比较了五味子不同炮制品中总木脂素、五味子醇甲、五味子乙素的差别。结果 从薄层色谱上看,生五味子、醋五味子及酒五味子无明显的差别,而总木脂素、五味子醇甲、五味子乙素均以酒五味子中的量稍高。结论 五味子经过炮制后,能增加其中所含的木脂素类成分的量。

关键词:五味子;炮制;总木脂素

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)09-1341-04

Influence of processing on total lignans in fruit of *Schisandrae chinensis*

YIN Fang-zhou, LU Tu-lin, CAI Bao-chang

(Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Key words: *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; processing; total lignans

五味子始载于《神农本草经》,是木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实。五味子味酸、性温,入肺、心、肾经,为固涩药,具有敛肺止咳、滋肾涩精、止汗止泻、生津止渴等多种作用,体现了中药“一药多效”的典型现象,这主要是由其内所含多种物质所决定。在临床上常用的五味子有生五味子、醋五味子和酒五味子。五味子生用入嗽药,蒸制入补药,酒制取其滋肾,而醋制则取其敛肺。五味子中主要含有木脂素类成分,是其保

肝、抗氧化的主要有效成分,此外还有有机酸、挥发油等成分。本实验采用高效液相色谱法比较了五味子不同炮制品中所含木脂素类成分五味子醇甲、五味子乙素的差异。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 液相色谱仪(美国惠普公司); UV-2401(日本岛津公司);电子天平(Mettler Toledo AG285);KQ-500E 型医用超声清洗器(昆山超声仪器有限公司);数显恒温水浴锅 HH-4(国

华电器有限公司)。

甲醇为 HPLC 级,其余试剂均为 AR 级。对照品:五味子醇甲(批号 11857-200203)、五味子甲素(批号 0764-200107)、五味子乙素(批号 110765-200205)、五味子酯甲(批号 1529-200001)由中国药品生物制品检定所提供。

五味子药材购自黑龙江铁力市,经南京中医药大学鉴定教研室秦明珠教授鉴定为木兰科植物五味子 *S. chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 五味子炮制品的制备^[1]

2.1.1 生五味子:取原药材,除去杂质及果柄,洗净,干燥。

2.1.2 醋五味子:取净五味子,用米醋拌匀,置适宜的容器内,密闭,隔水加热至黑色,取出干燥。醋的用量为每 100 g 药材加 20 g 醋。

2.1.3 酒五味子:取净五味子,加入黄酒,拌匀,置适宜的容器内,密闭,隔水加热至表面呈紫黑色或黑褐色,取出干燥。黄酒的用量为每 100 g 药材加 20 g 黄酒。

2.2 五味子不同炮制品的薄层色谱比较^[2]:分别取生五味子、醋五味子、酒五味子各 1 g,加入氯仿 50 mL 加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加氯仿 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。再取五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素对照品,加氯仿制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 2 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯(2.5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下(254 nm)下检视。结果见图 1。

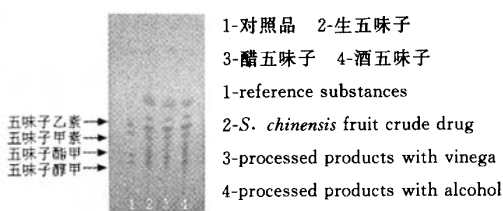


图 1 五味子及其不同炮制品的薄层色谱图

Fig. 1 TLC Chromatogram of *S. chinensis* fruit and its different processed products

2.3 五味子总木脂素的比较^[2]

2.3.1 标准曲线的制备:精密称取五味子乙素对照品适量,加甲醇溶解制成 0.337 mg/mL 对照品溶液。精密吸取该对照品溶液 10、20、40、60、80、100 μ L 按样品测定项下操作,于 570 nm 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: $Y = 0.2725X + 0.0239$, $r = 0.9992$ 。结果表明五味子乙素在 3.37~33.70 μ g 呈现良好的线性关系。

2.3.2 测定:取样品粉末(过三号筛)约 0.2 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加甲醇约 23 mL,超声(功率 250 W,频率 20 kHz)提取 20 min,取出,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,即得。

精密吸取供试品液、对照品溶液、甲醇各 20 μ L,分别置 3 支具塞试管中,挥去甲醇,再分别精密加入 10% 变色酸澄清水溶液 0.5 mL、硫酸 3 mL、水 1.5 mL,摇匀,置沸水浴中加热 30 min,迅速冷却。以上述甲醇管为空白,照分光光度法,分别在 570 nm 波长处测定吸光度,代入回归方程,计算结果见表 1。

表 1 五味子不同炮制品中总木脂素的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Total lignans in *S. chinensis* fruit and its processed products ($n=3$)

样 品	总木脂素/%
生五味子	3.72
醋五味子	3.47
酒五味子	4.12

2.4 五味子醇甲的比较^[2]

2.4.1 色谱条件:色谱柱:Lichrospher 5-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-水(13:7);检测波长:250 nm;体积流量:0.8 mL/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

2.4.2 对照品溶液的制备:精密称取 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的五味子醇甲对照品适量,置 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成 0.420 mg/mL 的对照品溶液。

2.4.3 线性关系的考察:取五味子醇甲对照品,加甲醇制成一系列质量浓度的对照品溶液,在上述色谱条件下,注入液相色谱仪。以峰面积积分值为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为: $Y = 25.032X - 8.2397$, $r = 0.9999$ 。结果表明五味子醇甲在 0.126~0.840 μ g 呈现良好的线性关系。

2.4.4 供试品溶液的制备:取以上 3 种五味子炮制品粉末(过三号筛)约 0.2 g,精密称定置 25 mL 量瓶中,加甲醇约 23 mL,超声处理(功率 250 W,频率 20 kHz) 20 min,取出,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,滤液作为供试品液。

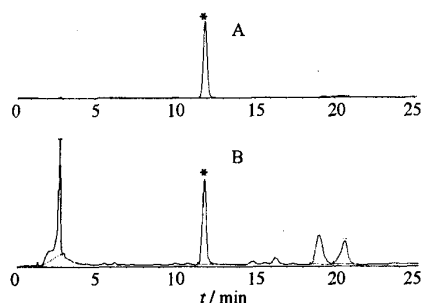
2.4.5 测定:分别精密称取 3 种五味子炮制品按供试品溶液项下处理,按上述色谱条件分离,进样 10 μ L,测定峰面积,计算,结果见表 2。色谱图见图 2。

2.5 五味子乙素的比较^[3]

表 2 五味子及其不同炮制品中的五味子醇甲 ($n=3$)

Table 2 Schisandrin in *S. chinensis* fruit and its processed products ($n=3$)

样 品	五味子醇甲/%
生五味子	0.508
醋五味子	0.472
酒五味子	0.588



* - 五味子醇甲

* - schisandrin

图 2 五味子醇甲对照品(A)和生五味子(B)的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC Chromatograms of schisandrin reference substance (A) and sample (B)

2.5.1 色谱条件: 色谱柱: Lichrospher 5-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (80 : 20); 检测波长为 254 nm; 体积流量为 0.8 mL/min; 柱温为 30 °C; 进样量为 10 μL。

2.5.2 对照品溶液的制备: 精密称取 105 °C 干燥至恒重的五味子乙素对照品适量, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配制成 0.489 mg/mL 的对照品溶液。

2.5.3 线性关系的考察: 取五味子乙素对照品, 加甲醇制成一系列质量浓度的对照品溶液, 注入液相色谱仪。以峰面积对质量浓度进行线性回归, 回归方程为: $Y=21\,980\,X-7.004\,9$, $r=0.999\,9$ 。结果表明五味子乙素在 0.122 25~0.489 μg 呈良好的线性关系。

2.5.4 供试品溶液的制备: 取以上 3 种五味子炮制品粉末 (过三号筛) 约 0.2 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇约 23 mL, 超声处理 (功率 250 W, 频率 20 kHz) 20 min, 取出, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过。滤液作为供试品溶液。

2.5.5 精密度试验: 取五味子乙素对照品溶液连续进样 5 次, 测定峰面积, 计算得其 RSD 为 0.20%。

2.5.6 稳定性试验: 取生五味子供试品溶液分别在 0、2、5、7、9、10、12 h 注入液相色谱仪, 测定五味子乙素峰面积, 计算得其 RSD 为 2.27%。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5.7 重现性试验: 平行精密称取 5 份生五味子 0.2 g, 制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL, 进样测定, 结果五味子乙素的质量分数为 0.330%, RSD 为 1.12%。

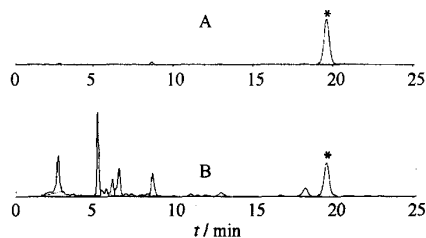
2.5.8 加样回收率试验: 精密称取已知量的生五味子样品, 五味子乙素约 0.15 mg, 分别加入五味子乙素对照品 0.146 7 mg, 制备供试品溶液, 测定, 计算得平均加样回收率为 101.09%, RSD 为 2.02% ($n=5$)。

2.5.9 测定: 取 3 种五味子炮制品供试品溶液, 按上述色谱条件分离, 进样 10 μL, 测定峰面积, 计算五味子乙素的质量分数, 结果见表 3, 色谱图见图 3。

表 3 五味子及其不同炮制品中的五味子乙素 ($n=3$)

Table 3 γ -Schisandrin in *S. chinensis* fruit and its processed products ($n=3$)

样 品	五味子乙素/%
生五味子	0.255
醋五味子	0.239
酒五味子	0.315



* - 五味子乙素

* - γ -schisandrin

图 3 五味子乙素对照品(A)和生五味子(B)的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC Chromatograms of γ -schisandrin reference substance (A) and crude *S. chinensis* fruit (B)

3 讨论

五味子临床常用的饮片有生五味子、醋五味子、酒五味子。用不同辅料、不同方法加工炮制五味子, 突出其多种生理活性的某一方面, 直达病所, 专而有力, 以使其适应临床辨证诊治处理错综复杂的主病证。五味子的主要成分为木脂素类, 是其发挥临床功效的主要成分。

本实验结果表明, 五味子 3 种炮制品在薄层色谱图上无明显的差别, 但经酒蒸后, 总木脂素、五味子醇甲、五味子乙素在量上有不同程度的提高, 因此考虑可能是因为酒的主要成分是乙醇, 是一良好的溶剂, 能较好的将五味子的木脂素类成分提取出来。

References:

- [1] Bureau of Drug Policy and Administration of People's Republic of China. *Chinese Herbal Medicine Processing Standard* (全国中药炮制规范) [M]. Beijing, People's Medical Publishing House, 1988.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [3] Gao Y Y, Ma M F. The rapid determination of r-schisandrin in Huguang Tablet [J]. *J Shandong Tradit Chin Med* (山东中医杂志), 2003, 22 (1): 40-42.

球面对称设计优化荨麻多糖的提取工艺

宋学伟, 潘 兰, 韩泳平*, 钟亚玲, 任 磊

(西南民族大学少数民族药物研究所, 四川 成都 610041)

荨麻为常用的中药和民族药物, 药用历史悠久, 具有祛风定惊、温胃消食等功效, 现代药理研究表明荨麻还具有抗过敏、提高免疫力等作用^[1]。荨麻多糖还是抗炎、抗癌的主要活性成分之一^[2,3]。目前, 对荨麻的化学成分研究已有报道^[4], 但对荨麻多糖提取工艺的研究少见报道^[5]。本实验采用球面对称设计法对荨麻多糖的提取工艺进行了研究。

1 材料与仪器

荨麻购于成都五块石药材市场, 经成都中医药大学药用植物鉴定教研室严铸云博士鉴定为宽叶荨麻 *Urtica fissa* E. Pritz.

721 分光光度计(上海第三仪器分析厂), Mettler Toledo Al104 电子天平; 葡萄糖对照品(成都科龙化学试剂公司, AR 级), 所用其他试剂均为国产分析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 粗多糖的提取与精制: 称取一定量的药材粗粉, 加入蒸馏水适量, 加热浸提, 滤过。滤渣在同样条件下重复提取一次, 滤过, 合并两次滤液, 浓缩后醇沉, 静置 12 h, 离心分离, 沉淀物用水复溶, 除去不溶物, 再次醇沉, 干燥, 得粗多糖。粗多糖于蒸馏水中溶解至适当体积后, 经过 Savage 法脱蛋白、透析、活性炭脱色、乙醇沉淀等步骤处理后, 60 ℃ 下真空干燥得到荨麻多糖精制样品。

2.2 对照品溶液的配制: 精密称取干燥至恒重的葡萄糖 60.0 mg, 配成 100.0 mL 溶液, 即得 0.60 mg/mL 葡萄糖对照品溶液, 备用。

2.3 标准曲线的绘制: 分别取葡萄糖对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 置于 50 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 得系列溶液, 上述溶液分别取 1.0

mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 2.0 mL 苯酚溶液, 加入浓硫酸 4.5 mL, 摇匀, 放置 20 min, 于 60 ℃ 水浴 30 min, 蒸馏水定容至刻度, 在 490 nm 处测定吸光度(A), 以不加样为空白。以质量浓度(C)对吸光度(A)回归的方程: $C = 0.0875A + 0.0036$, $r = 0.9984$, 线性范围为 1.2~7.2 μg/mL。

2.4 换算因素的测定: 精密称取 60 ℃ 真空干燥至恒重的精制荨麻多糖 100 mg, 置于 250 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度溶解, 移取 1.0 mL 于 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 取 1.0 mL 溶液于 10 mL 量瓶中, 按 2.3 项下方法操作, 在 490 nm 处测定 A 值, 根据回归方程计算多糖中葡萄糖的质量浓度, 按下式计算换算因素 f, 测得 $f = 1.37$ 。

$$f = W / (CD)$$

式中 W 为多糖的质量(mg), C 为溶液中葡萄糖的质量浓度(mg/mL), D 为稀释因素

2.5 供试品溶液的制备: 称取 5.00 g 药材 11 份, 分别按照球面对称设计的条件进行提取与精制多糖(步骤同 2.1 项下操作), 所得多糖置 250 mL 量瓶中, 加水溶解至刻度, 即得供试品溶液。

2.6 多糖的测定: 分别精密移取各供试品溶液 1.0 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 取 1.0 mL 溶液于 10 mL 量瓶中, 按 2.3 项下方法操作, 测定供试品溶液中多糖的质量浓度, 按下式计算多糖得率。

$$\text{多糖得率} = Cdf / \text{药材质量} \times 100\%$$

2.7 提取工艺的优化: 采用目前国外较为流行的球面对称设计法对荨麻多糖的提取工艺条件进行优化。选取提取温度(X_1)、提取时间(X_2)、加水量(料液比, X_3)为参考因素, 以多糖得率为考察指标。因素水平见表 1, 试验设计见表 2。

收稿日期: 2005-11-28

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金(2004527); 西南民族大学人才引进项目(234377)

作者简介: 宋学伟(1982—), 男, 土家族, 湖南省湘西自治州人, 有机化学专业在读硕士研究生, 主要从事天然有机物、天然药物研究与开发。Tel(029)85524283 E-mail:sxweu1982@163.com

* 通讯作者 韩泳平 Tel: (028) 85521206 E-mail: yongpinghan@mail.china.com