

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

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	X ₁	X ₂	X ₃
3 ^{-1/2}	70	2	5:1
-1	76	3.3	7:1
0	85	5.0	8:1
1	94	6.7	9:1
3 ^{1/2}	100	8.0	11:1

表 2 球面对称设计试验及结果
Table 2 Spherical symmetric design and their results

试验号	X ₁ /℃	X ₂ /h	X ₃	多糖得率/%
1	76	3.3	9:1	1.01
2	94	3.3	7:1	1.32
3	76	6.7	7:1	1.37
4	94	6.7	9:1	0.96
5	70	5.0	8:1	1.07
6	100	5.0	8:1	1.21
7	85	2.0	8:1	1.39
8	85	8.0	8:1	0.86
9	85	5.0	5:1	1.17
10	85	5.0	11:1	1.23
11	85	5.0	8:1	1.27

将实验数据进行多元回归处理、二项式拟合, 得: $Y = 2.59176 + 1.40268X_2 - 1.21434X_3 - 0.00045X_1^2 - 0.01391X_2^2 - 0.00548X_3^2 - 0.01225X_1X_2 + 0.01773X_1X_3 - 0.03911X_2X_3$; $r = 0.9986$, $F = 89.3062$, $P = 0.0111$, $S_{余} = 0.02053$, 回归方程显著、有效。

根据回归方程计算得优化条件为: $X_1 = 100$ ℃, $X_2 = 2$ h, $X_3 = 11:1$ 。

理论上在优化此条件下多糖总的理论得率应为 3.04%。

2.8 优化条件的验证: 称取荨麻药材粗粉 10.00 g, 在最佳条件下进行验证, 多糖得率为 2.76% ($n=3$)。

3 讨论

球面对称设计法是目前在国外较为流行的试验方案优化设计方法, 该法具有实验次数少、精度高的特点。本实验采用该方法, 通过多元回归处理, 得出了荨麻多糖的最佳实验条件: 以药材量 11 倍的水作为溶剂在 100 ℃ 下提取 2 h; 并在此条件下进行工艺验证试验, 从验证试验效果来看, 该方法适合于荨麻多糖提取条件的优化设计。

References:

- [1] Huang X L, Zhou Y J. A preliminary study of pharmacological effects for *Urtica* [J]. *J Central Univ Nationel: Nat Sci* (中央民族大学学报: 自然科学版), 2002, 11 (2): 182-186.
- [2] Lichius J J, Lenz C J, Lindemann P. Antiproliferative effect of a polysaccharide fraction of 20% methanolic extract of stinging nettle root upon epithelial cell of the human prostate (LNCaP) [J]. *Pharmazie*, 1999, 54 (10): 768.
- [3] Lutz K, Hans-Helge M, Corinna L, et al. Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle (*Urtica dioica*) extract [J]. *Planta Med*, 2000, 66 (1): 44.
- [4] Zhang M L, Li Z P, Jin X M. Study on chemical constituents of *Urtica cannabina* L [J]. *Nat Pro Res Dev* (天然产物研究与开发), 2005, 17 (2): 175-176.
- [5] Wei Y F, Wang M Y, Shi Y, et al. Extraction and determination of polysaccharides in *Urtica fissa* E. Pritz [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药理学杂志), 2001, 16 (6): 469-470.

RP-HPLC 法测定大蒜油中二烯丙基三硫和二烯丙基二硫

刘丽梅, 王瑞海, 陈琳, 丁家欣, 张秋海

(中国中医研究院基础理论研究所, 北京 100700)

大蒜油是百合科葱属植物大蒜 *Allium sativum* L. 的地下鳞茎外皮干燥后经水蒸气蒸馏提取而得到的挥发油。大蒜油具有抗菌、调血脂、降血糖、降压利尿、抗血小板凝集、增加纤维蛋白溶解性、保肝、抗衰老、抗肿瘤等多种功能^[1,2], 特别是对心血管、肿瘤有很好的生理活性, 使其在新药开发、保健品生产上存在着很大潜力。我国每年约有 20t 大蒜油出口, 也给大蒜油的生产厂家带来巨大的商机。但我国目前没有完善的大蒜油生产质量标准, 仅依据挥发油的

物理常数, 使生产和出口受到一定的限制。为此本实验选择大蒜油中主要活性成分二烯丙基三硫和二烯丙基二硫为质量控制指标, 对大蒜油的质量进行监控, 旨在为制定国家标准提供依据。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪(美国 HP1100, 包括四元泵、二极管阵列检测器、自动进样器、HP 化学工作站), 精密天平 DT-100(北京光学仪器厂), 控温多用高速组织捣碎机(江苏江阴科研器械厂)。