

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

	方差来源	SS	ν	MS	F	P
浸膏收率	A	11.747 5	2	5.083 7	5.58	
	B(误差)	2.104 3	2	1.052 1	1.00	
	C	44.829 9	2	22.414 9	21.30	<0.05
	D	3.938 4	2	1.969 2	1.87	
	总和	62.620 1	8			
总黄酮	A	3.091 1	2	1.545 6	1.91	
	B(误差)	1.615 6	2	0.807 9	1.00	
	C	24.018 8	2	12.009 4	14.86	
	D	1.853 5	2	0.926 8	1.15	
	总和	30.579 0	8			
肿胀度	A	0.166 7	2	0.083 4	3.56	
	B(误差)	0.046 7	2	0.023 4	1.00	
	C	1.040 0	2	0.520 0	22.22	<0.05
	D	0.086 7	2	0.043 4	1.86	
	总和	1.340 1	8			

$$F_{0.05}(2,2)=19.00$$

2.6 验证试验:按 $A_1B_3C_2D_2$ 的条件进行提取 3 次,结果浸膏得率平均为 17.98%,总黄酮的质量分数平均值为 11.14%,肿胀度为 (1.9 ± 1.1) mg。由实验结果看出,利用正交试验方法确定的 $A_1B_3C_2D_2$ 为最佳的工艺条件。

3 讨论

了哥王用乙醇为提取剂,有利于黄酮类化合物的溶出且可提出水溶和脂溶的成分,乙醇毒性小,来源方便。乙醇体积分数对总黄酮影响最大,75%乙醇提取黄酮类化合物较多,体积分数增加,提取量下降,可能由于以下两种原因。一方面醇体积分数增加,植物细胞皱缩,不利于黄酮类成分溶出;另一方面提取液颜色加深,说明一些醇溶性的杂质、色素等成分溶出量增加,可能这些成分与黄酮类化合物竞争乙醇-水分子结合,导致提取率下降。

通过正交试验已考察到醇体积分数对浸膏收率、抗炎效果有显著影响,75%乙醇提取量较多,抗炎效果好,提取黄酮类化合物较多,所以确定乙醇体积分数为 75%。由于加醇量对结果影响最小,虽然乙醇 6 倍量节约能源,但 10 倍量更有利于有效物质的浸出。所以正交试验优选出最佳提取条件为 $A_1B_3C_2D_2$,即用 75%乙醇,加 10 倍量,提取 2 次,每次 4 h。由实验结果看出,不同工艺条件所获得乙醇浸膏收率可相差 7.34%,总黄酮的质量分数可相差 5.81%,肿胀度可相差 1.2 mg。

有研究表明了哥王中黄酮类成分有抗炎作用,所以本实验以总黄酮质量分数为指标,结果看出肿胀度与浸膏得率无关,而与总黄酮质量分数有关,再次证明了黄酮类化合物有抗炎作用。

References:

- [1] Xie Z W, Yu Y C. *Taxonomy of Nationwide Chinese Herbal Medicine* (全国中草药名鉴) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [2] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.
- [3] Luo X R. *Practical Kromogram Collection of Chinese Medicinal Plants* (实用中草药彩色图集) [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Publishing House, 2000.
- [4] Tian D H. *Dictionary of Practical Chinese Medicinal Plants* (实用中药辞典) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003.
- [5] Nunome S, Ishiyama A, Kobayashi M, et al. *In vitro* antimalarial activity of biflavonoids from *Wikstroemia indica* [J]. *Planta Med*, 2004, 70: 72-76.
- [6] Fang L, Zhu L Y, Liu W L, et al. Studies on the effect of antiinflammation and antibacterial of Liaogewang Tablet [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息), 2000, 7 (1): 28.
- [7] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.

何首乌清蒸工艺研究

赵荣华, 赵声兰, 解奉江, 饶高雄, 毛晓健

(云南中医学院 中药炮制研究中心, 云南 昆明 650200)

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。何首乌的炮制对其化学成分和药理作用均有一定的影响。何首乌常用的方法为清蒸法。何首乌中结合蒽醌随着蒸制时间

的延长而减少,结合蒽醌水解反应属于一级反应,反应物为游离蒽醌^[2]。常用的清蒸炮制方法费时费力^[1],而高温炮制则时间短。因此本实验以结合蒽醌的量和淀粉糊化程度为指标,研究了 120 ℃ 下长、

收稿日期:2006-04-06

基金项目:国家中药现代化科技产业(云南)基地建设专项基金资助项目

作者简介:赵荣华(1958—),男,昆明人,中药炮制研究中心主任,主要从事中药炮制方面的研究。

Tel:(0871)6212611 E-mail:zharh@tom.net

宽、高在 0.8~1 cm 粒状何首乌和切片厚度在 2~4 mm 厚片何首乌常用两种规格饮片的清蒸工艺,希望为何首乌工业化生产提供依据和参考。

1 仪器、药品与动物

7520 型可见-紫外分光光度计(上海分析仪器厂);Waters 液相色谱仪,600 泵,2487 双波长紫外检测器;XPT-7 型偏光显微镜(江南光学仪器厂)。

大黄素(批号 0756-200110)、二苯乙烯苷(批号 0844-200003)对照品由中国药品生物制品检定所提供。试剂均为分析纯试剂,水为纯净水。

何首乌药材样品均来自云南绿劝县,经云南中医学院中药鉴定教研室廖心荣教授鉴定为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum* Thunb. 的块茎,人工切成 0.8~1 cm 粒状(平均 0.5 g/粒)和 2~4 mm 厚片两种不同规格饮片。

昆明种小鼠,18~22 g,购自云南省药物研究所,雄雌各半。

2 方法与结果

2.1 清蒸品的制备:取 0.8~1 cm 粒状何首乌 10 份,每份 200 g,每份用 200 mL 水浸润,润透后,放入高压锅中的竹皿中,120 ℃ 蒸制,蒸制时间分别为 0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12 h。取 2~4 mm 厚片何首乌 5 份,每份 200 g,每份用 200 mL 水浸润,润透后,放入高压锅中的竹皿中,120 ℃ 蒸制,蒸制时间分别为 2、3、4、5、6 h。蒸好后置电热鼓风干燥箱中 80 ℃ 干燥至含水量为 10%,备用。

2.2 结合蒽醌的测定

2.2.1 对照品溶液的制备:准确称取大黄素对照品 10.40 mg,用甲醇溶解并定容于 10 mL 量瓶中,即得质量浓度为 1.04 mg/mL 的储备液。取 3.00 mL 储备液,以甲醇定容于 100 mL 量瓶中,即为 31.2 μg/mL 大黄素对照品溶液。

2.2.2 标准曲线的制备^[3]:分别准确吸取大黄素对照品溶液 0.5、1.0、3.0、5.0、6.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,各加 2.5 mL 乙酸镁显色剂,用甲醇定容并混匀显色。显色 15 min 后,以显色液为空白,于 512 nm 测定其吸光度,数据回归处理,得回归方程为 $A=41.1C+0.009\ 052$, $r=0.999\ 2$ 。结果表明大黄素在 15.6~187.2 μg 与吸光度呈现良好的线性关系。

2.2.3 供试品溶液的制备:精确称取样品约 1 g(过 60 目筛),置索氏提取器中,加入 100 mL 氯仿,在沸水浴上回流 2 h,经检查游离蒽醌提尽后,氯仿液回收溶剂。药渣以 100 mL 甲醇继续于沸水浴上回流

提取结合型蒽醌,约 2 h 经检查结合蒽醌提尽后,甲醇液回收溶剂,然后加入 15% 硫酸溶液 40 mL、氯仿 30 mL,于沸水浴上回流水解约 4 h,经检查水解完毕后,水解液置分液漏斗分取氯仿层,上层水相用 45 mL 氯仿分 3 次萃取。合并氯仿液,适量纯净水返洗至 pH 值为 6 左右,回收氯仿,残留物用甲醇溶解,转移至 10 mL 量瓶中,并用甲醇定容至 10 mL,作为结合蒽醌的供试品溶液。

2.2.4 测定:制备供试品溶液,测定其吸光度,依回归方程计算结合蒽醌的质量分数,结果见表 1。

2.3 二苯乙烯苷的测定

2.3.1 色谱条件:Exsil ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以乙腈-水(25:75)为流动相,体积流量 1 mL/min,检测波长 320 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备:准确称取二苯乙烯苷对照品 10.80 mg,以 50% 乙醇配成 1.08 mg/mL 储备液。取 2.00 mL 储备液以 50% 乙醇定容至 10 mL,即为 0.216 mg/mL 二苯乙烯苷对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备^[3]:取样品约 0.20 g,精确称定,精确加入 50% 乙醇 25 mL,称定质量,浸泡 1 h,回流 30 min,放冷,用 50% 乙醇补足减失的质量,摇匀,上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即为供试品溶液。

2.3.4 系统适用性试验:分别取对照品溶液、供试品溶液注入色谱仪。结果二苯乙烯苷对照品 t_R 为 4.647 min,理论塔板数 10 000 以上。供试品溶液中二苯乙烯苷的 t_R 为 4.690 min,理论塔板数 8 000 以上,且无相邻吸收峰。

2.3.5 线性关系考察:分别吸取二苯乙烯苷对照品溶液 2、4、6、8、12、20 μL 进样,记录色谱图。以峰面积对进样量回归处理,结果回归方程为 $Y=326.117X+23.492$, $r=0.999\ 23$,表明二苯乙烯苷在 0.432~4.32 μg 与峰面积呈现良好的线性关系。

2.3.6 样品测定:按上述方法制备各种供试品溶液,分别进样测定,结果见表 1。

2.4 样品淀粉粒糊化情况的观察:使用偏光显微镜观察各个样品内的淀粉粒数量,结果见表 1。

2.5 泻下实验

2.5.1 受试药物的提取:分别取生首乌、粒状何首乌和厚片何首乌清蒸品粉末(过 60 目筛)各 10 g,加入索氏提取器中用甲醇提取 12 h,回收甲醇后加纯净水溶解至 8 mL,备用。

2.5.2 方法与结果:将禁食 24 h 的小鼠 160 只,随

机分为 16 组(每组雌雄各半),苦味酸标记。各组分别 ig 何首乌提取物 0.2 mL/10 g 体重(25 g/kg 体重),对照组 ig 同体积的生理盐水。各鼠分别置于铺有滤

纸、反罩的烧杯内进行观察,记录小鼠排稀便时间和数目,连续观察 6 h,6 h 内未泻者,排稀便时间按 360 min 记,排稀便次数按 0 次记,实验结果见表 2。

表 1 何首乌清蒸品中各指标的比较

Table 1 Comparison on various indexes of <i>P. multiflorum</i> samples steamed at high temperature						
处理时间/h	结合蒽醌/(mg·g ⁻¹)		二苯乙烯苷/%		淀粉粒观测	
	粒状何首乌	厚片何首乌	粒状何首乌	厚片何首乌	粒状何首乌	厚片何首乌
0(生品)	3.31	3.31	4.59	4.59	大量	大量
0.5	2.85		4.48		少量	
1	2.65		4.46		部分	
2	2.55	2.45	4.34	4.12	部分	部分
3	2.48	2.20	4.28	3.87	部分	未见
4	2.21	2.00	3.94	3.73	未见	未见
5	2.14	1.99	3.82	3.54	未见	未见
6	2.09	1.91	3.37	3.36	未见	未见
8	2.02		3.16		未见	
10	2.04		2.97		未见	
12	2.01		2.83		未见	

表 2 何首乌清蒸品对小鼠排便时间和次数的影响
($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of *P. multiflorum* steamed at high temperature on time and frequency of mice defecation ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组 别	排稀便时间/min	排稀便次数/次	致泻率/%
生首乌	145.9±40.4	7.0±2.5	100
粒状何首乌			
蒸制 0.5 h	148.4±20.7	5.8±2.0	100
蒸制 1 h	200.4±86.8	4.4±3.1	90
蒸制 2 h	177.9±67.7	5.3±2.9	100
蒸制 3 h	145.5±26.5	4.1±2.6	90
蒸制 4 h	230.4±114.4	3.8±2.5	80
蒸制 5 h	226.1±124.5	2.1±2.3**	60
蒸制 6 h	360±0**	0**	0
蒸制 8 h	360±0**	0**	0
蒸制 10 h	360±0**	0**	0
厚片何首乌			
蒸制 2 h	152.6±21.9	5.6±2.1	90
蒸制 3 h	228.4±125.5	2.3±2.1**	30**
蒸制 4 h	360±0**	0**	0
蒸制 5 h	360±0**	0**	0
蒸制 6 h	360±0**	0**	0
对照组	360±0**	0**	0**

与生首乌比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs *P. multiflorum* crude drug group
数据呈偏态分布,排稀便时间和排稀便次数用

参比差值法统计比较,致泻率用简化直接概率法统计比较。与生首乌比较,粒状何首乌须蒸制 6 h 无致泻作用。蒸制 5 h 对排稀便次数有明显抑制($P<0.01$),但对排稀便时间、致泻率则影响不明显($P>0.05$);厚片何首乌须蒸制 4 h 无致泻作用。蒸制 3 h 对排稀便次数、致泻率有明显的抑制作用($P<0.01$),但对排稀便时间则影响不明显($P>0.05$)。

3 讨论

0.8~1 cm 粒状何首乌 120 ℃清蒸 6 h 或 6 h 以上(即使结合蒽醌的量低于 2.1 mg/g)无致泻作用,此时淀粉粒完全糊化,为了最大保护有效成分二苯乙烯苷,蒸制 6 h 最佳;2~4 mm 厚片何首乌 120 ℃清蒸 4 h 或 4 h 以上无致泻作用,此时淀粉粒完全糊化,为了最大保护有效成分二苯乙烯苷,蒸制 4 h 最佳。

References:

[1] Lin X Y. Comparative study on effective components of different processed products of *Polygonum multiflorum* [J]. *J Med Theory Pract* (医学理论与实践), 2002, 15 (12): 1466-1467.
[2] Feng L S, Yang T T. Study on the best processed method of *Polygonum multiflorum* [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 1998, 15 (1): 11-12.
[3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2005.

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅