

中药复方二仙汤活性成分提取方法的研究

王 寅¹, 张巧艳²

(1. 解放军第 455 医院, 上海 200052; 2. 第二军医大学, 上海 200433)

[摘 要] **目的** 探讨二仙汤中活性成分的提取方法。**方法** 以知母黄酮和皂苷含量之和为指标, 通过单因素试验和正交试验考察不同因素和水平对二仙汤活性成分提取效果的影响。**结果** 就二仙汤中的知母黄酮和皂苷类成分而言, 最佳提取条件为 12 倍量 50% 乙醇提取 3 次, 每次 1.5 小时。**结论** 该方法合理、简单、可行, 可为二仙汤活性成分的提取提供依据。

[关键词] 二仙汤; 知母; 黄酮; 皂苷; 提取方法

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-271X(2008)05-0329-02

The methods of extraction of active chemical constituents from ER-XIAN-TANG

WANG Yin¹, ZHANG Qiao-yan² (1. The 455th Hospital of PLA, Shanghai 200052, China; 2. Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To explore the extractive methods of active chemical constituents from ER-XIAN-TANG. **Methods** The sum of Flavonoids and Saponins content of Rhizoma Anemarrhenae was regarded as an index, and the influences of different factors and levels on the methods to extract the active chemical contents from ER-XIAN-TANG were investigated by using a simple factor experiment and orthogonal experiment. **Results** The optimum extractive condition was that the extraction is carried out in one and half hour with 12 times solvent volume of 50% ethanol for three times. **Conclusion** The method is appropriate, simple and feasible, and it provided theoretic basis for the extraction of active chemical constituents from ER-XIAN-TANG.

[Key words] ER-XIAN-TANG; Rhizoma Anemarrhenae; Flavones; Saponins; Extraction methods

二仙汤具有温肾益精、滋阴降火的双重调节功能^[1], 临床上用于防治更年期综合征和骨质疏松症^[2]。研究发现, 二仙汤中知母黄酮及皂苷类化合物对成骨细胞具有显著的促进作用, 显著降低去卵巢骨质疏松症大鼠的骨质丢失。基于上述研究, 我们建立了二仙汤中知母黄酮及皂苷的含量测定方法^[3], 本文以知母黄酮类和皂苷类成分为指标, 探讨二仙汤中活性知母黄酮和皂苷的提取方法。

1 实验材料

1.1 仪器 Agilent1100 系列高效液相色谱仪 (Palo Alto, CA), 包括四元泵、手动进样器、二极管阵列检测器 (DAD)、柱温箱、真空脱气机, Agilent

Zorbax SB-C-18 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm i. d., 3.5 μm)。Mettler AE 十万分之一天平, Carry50 紫外分光光度计, Branson8510 超声提取器。

1.2 药材和试剂 淫羊藿、仙茅、知母、黄柏、巴戟天、当归均购自安徽亳州药材市场; 微孔滤膜 (0.45 μm, Anpel 公司), 甲醇、乙腈为色谱纯, 磷酸、异丙醇、磷酸二氢钾为分析纯 (上海化学试剂公司), 水为双蒸水, 使用前经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。香兰素、冰醋酸、高氯酸、氯仿均为分析纯, 购自上海化学试剂公司。

对照品: 新芒果苷 (neo-mangiferin) 为自制, 纯度 98%; 芒果苷 (mangiferin)、菝葜皂苷元购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

按文献^[3]方法, 以不同浓度乙醇作为提取溶剂, 制成供试品溶液, 测定知母黄酮和皂苷的含量。

从表 1 可知, 新芒果苷以水和低浓度的乙醇提

基金项目: 国家自然科学基金项目 (90209043); 南京军区“十一五”计划基金项目 (06MB156)

作者简介: 王 寅 (1974-), 男, 浙江杭州人, 博士, 副主任药师, 从事药理学研究工作。

取得率较高,以50%以上浓度的乙醇提取得率较低;芒果苷以水和10%乙醇提取得率较低,以高浓度乙醇提取得率较高,乙醇浓度达到95%以上时,提取得率反而降低;以芒果苷和新芒果苷的总含量为指标时,则乙醇浓度30%、50%和70%时,黄酮类成分的提取得率较高。当乙醇浓度为30%、50%和70%时,提取液中知母皂苷类成分的含量较高。因而,提取溶剂乙醇浓度的区间确定为30%~70%。

以正交法考察溶剂用量(A)、溶剂乙醇浓度(B)、提取时间(C)和提取次数(D)对知母黄酮和皂苷提取得率的影响,见表2。每个因素取3个水平,以黄酮和皂苷含量为考察指标,采用L₉(3⁴)正交试验进行优化,见表3。

表1 乙醇浓度对知母黄酮和皂苷类成分提取效率的影响(μg/ml)

提取溶剂	新芒果苷含量	芒果苷含量	总黄酮含量	知母皂苷含量
水	141.78	127.00	268.78	193
10%乙醇	139.87	90.00	229.87	296
30%乙醇	149.32	142.00	291.32	313
50%乙醇	79.60	267.00	346.60	272
70%乙醇	62.06	232.00	294.06	382
95%乙醇	21.13	150.00	171.13	159

表2 正交试验的因素水平

水平	溶剂量(A) 倍	乙醇浓度(B) %	提取时间(C) min	提取次数(D)
1	8	30	60	1
2	10	50	90	2
3	12	70	120	3

表3 L₉(3⁴)正交试验结果

L ₉ (3 ⁴)					样品中知母黄酮和皂苷的含量之和
试验号	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	211.97
2	1	2	2	2	547.16
3	1	3	3	3	503.68
4	2	1	2	3	428.02
5	2	2	3	1	389.04
6	2	3	1	2	436.64
7	3	1	3	2	367.92
8	3	2	1	3	504.66
9	3	3	2	1	445.94
I	1262.81	1007.91	1153.27	1046.95	
II	1253.70	1440.86	1421.12	1351.72	
III	1318.52	1386.26	1260.64	1436.36	
R	64.82	432.95	267.85	389.41	

按文献[3]方法,制备供试品溶液,测定提取液中知母黄酮及皂苷的含量。由表3可知,样品中知母黄酮及皂苷的含量总和依次为2>8>3>9>6>4>5>7>1,因素影响大小为B>D>C>A,即乙醇浓度>提取次数>提取时间>溶剂量,各因素的最佳水平为A3B2C2D3,即12倍量50%乙醇提取3次,每次1.5小时。

3 讨论

应用正交试验优化活性成分的提取方法,当有两项评价指标时,往往采用加权评分的方法确定最佳条件,该方法在两项指标变化趋势情况不一致时候尤显其优越性。本研究没有引入权重概念,因为在供试品溶液中,知母黄酮及皂苷含量的变化趋势基本一致,两者都因其明确的药理活性,对二仙汤的抗骨质疏松作用产生影响,因此用提取液中知母黄酮和皂苷的含量之和作为评价指标。

经正交法优化提取条件,即采用12倍量50%乙醇提取3次,每次1.5小时,可以使二仙汤中知母黄酮及皂苷得到较充分提取。该方法简单,活性成分得率高,是合适的二仙汤活性成分提取方法。

参考文献

- [1] 刘水清. 二仙汤临床应用[J]. 四川中医, 2000, 18(7): 55-56.
- [2] 王长海, 张仲海. 二仙汤治疗骨质疏松50例[J]. 陕西中医, 1998, 19(5): 205.
- [3] 王寅, 李明峰, 解蕊, 等. 二仙汤中知母黄酮及皂苷含量测定[J]. 中国药物应用与监测, 2007, 4(6): 13-15.
- [4] 孙立亚, 高文远, 刘新桥, 等. 升麻配方颗粒的制备工艺和质量控制研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(16): 1719-1721.
- [5] 邓铁渊, 高文远, 刘新桥, 等. 葛根配方颗粒的制备工艺和含量测定[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 542-544.
- [6] 张世高, 张玉红, 周国运. 中药消食口服液的制备工艺及质量控制[J]. 中国中医药杂志, 2006, 4(6): 148.
- [7] 方波, 郑进, 高利刚, 等. 小红参滴丸的制备工艺研究[J]. 云南中医学院学报, 2004, 27(4): 6-9.
- [8] 王兴志, 刘汉清. 神痛宁胶囊的制备工艺研究[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(1): 29-40.
- [9] 刘炳良, 张济芳, 郝广启. 正交试验法优化清热解毒口服液制备工艺[J]. 山东医药工业, 2002, 21(4): 4-5.

(收稿日期: 2008-03-31; 修回日期: 2008-09-15)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)