

then extracted with 50% methanol with the aid of ultrasonic wave. Samples from five different manufacturers were determined. Their geniposide contents varied from 0.356 mg/Tab, 0.467 mg/Tab, 0.957 mg/Tab, 2.975 mg/Tab and 5.387 mg/Tab. The average recovery was 97.4% and $RSD=1.61\%$.

Key words Qinghuo Zhimai tablets (QZM) geniposide RP-HPLC

用均匀设计法优选侧柏叶中槲皮苷的提取纯化工艺

中国药科大学(南京 210009) 曾 詮* 易登录 吴洪元 黄炳生**

摘 要 用均匀设计法优选了侧柏叶中槲皮苷的提取纯化工艺。结果表明:乙醇浓度、用量、浸泡时间以及水的用量、萃取溶剂体积对槲皮苷得率都有直接的影响;而氯化钠及 pH 值对得率影响不大。

关键词 均匀设计法 侧柏叶 槲皮苷 双波长薄层扫描法

侧柏叶性味苦、涩,微寒,有凉血止血作用。据报道侧柏叶中的止血活性成分是槲皮苷^[1]。我们用均匀设计法研究槲皮苷提取纯化工艺^[2,3]。采用双波长薄层扫描法来测定侧柏叶中各设计方案中槲皮苷的含量。该研究将使均匀设计法在对优化提取有效成分得率上提供了一些参考数据。

1 实验部分

1.1 药材:侧柏叶 1997 年 4 月及 1997 年 5 月分别采于中国药科大学校园和南京市中山陵,经鉴定为侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥枝梢及叶。

槲皮苷 quercitrin 对照品:华西医科大学提供。

其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器:岛津 CS-9000 型双波长薄层扫描仪,十万分之一分析天平(R200D, Sartorius research),UV-Ⅱ型三用紫外分析仪(北京凯星电讯设备研究所)。

2 实验方法

2.1 优选提取纯化工艺

2.1.1 提取方法的选择:比较了水提与醇提取侧柏叶中的槲皮苷的含量,以醇提含量高。又在生药量、醇的浓度、醇的体积及提取后的

纯化步骤完全相同情况下,比较了热回流提取法、索氏提取法、渗漉法、室温浸渍法对有效成分的影响。实验结果以渗漉法提取槲皮苷含量较高(表 1),且杂质少,确定以渗漉法作为均匀设计的提取方法。

表 1 不同提取方法对侧柏叶中槲皮苷含量的影响($n=3$)

提取方法	热回流	索氏提取	渗漉	室温浸渍	水提取
槲皮苷(%)	0.1359	0.1287	0.1480	0.1152	0.07583

2.1.2 优选提取纯化工艺:经试验选用渗漉法作为均匀设计提取方法,以槲皮苷为检测指标,设计侧柏叶的提取纯化工艺。首先以乙醇浓度、用量、浸泡时间考察侧柏叶提取工艺,根据所得的最优条件,选择加水量、加氯化钠量、调 pH 值及萃取溶剂体积 4 个因素再次运用均匀设计探讨这些因素对纯化工艺的影响,提取纯化的因素水平表见表 2。 U_5 (5⁴)试验及结果见表 3。

2.2 侧柏叶中槲皮苷的测定

2.2.1 标准曲线的绘制:精密称取槲皮苷 1.86 mg,配成 1.86 mg/mL 的醇液,精密吸取 1.0、2.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0 μL 点于薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(80:15:5:5)为展开剂,展开,晾干,紫外灯 254

* Address: Zeng Quan, China Pharmaceutical University, Nanjing

** 本校 97 届毕业生

nm 下定位,薄层扫描仪上扫描, $\lambda_s = 335$ nm, $\lambda_R = 200$ nm,得回归方程:

$Y = 4\ 603.192477X + 10\ 345.39397$, X 为点样量(μg), Y 为吸收度, $r = 0.9979$, 槲皮苷在 1.86 μg 至 14.88 μg 呈线性。

表 2 侧柏叶中槲皮苷的提取纯化因素水平

试验	因素	1	2	3	4	5
提取	乙醇浓度(%)	10	30	50	70	90
	浸泡时间(h)	12	20	28	36	48
	乙醇用量(mL)	80	100	120	140	160
纯化	加水体积(mL)	20	30	40	50	60
	加 NaCl 量(g)*	0	12	20	28	36
	pH 值**	不调	3.5	3	2.5	2
	萃取溶剂体积(mL)	30	42	60	72	90

* 加氯化钠的量,以加水的体积来计算 ** 不调的 pH 值约为 4.5

表 3 侧柏叶中槲皮苷的提取纯化 $U_5(5^4)$

试验设计及结果($n=3$)

试验	因素	1	2	3	4	5	优化条件
提取	乙醇浓度(%)	10	30	50	70	90	73
	浸泡时间(h)	20	36	12	28	48	26
	乙醇用量(mL)	140	120	100	80	160	77
槲皮苷含量(%)		0.12	0.14	0.14	0.16	0.16	预测值 实测值
							0.158 0.152
纯化	加水体积(mL)	20	30	40	50	60	20
	加 NaCl(g)	2.4	8.4	0	10	21.6	不加
	pH 值	3	不调	2.5	3.85	2	不同
	萃取溶剂(mL)	72	60	42	30	90	30
槲皮苷含量(%)		0.22	0.19	0.19	0.19	0.11	预测值 实测值
							0.252 0.224

薄层扫描其他方法学考察:精密度 RSD 为 2.7% ($n=5$), 稳定性 $RSD = 2.5\%$, 在 1.5 h 内稳定, 加样回收平均回收率为 96.33%, $RSD = 1.2\%$

2.2.2 提取样品液制备与测定:制备:精称侧柏叶粗粉 10 g, 按表 3 的提取设计方案渗漉, 回收醇至干, 加水 80 mL 溶解, 过滤, 以乙酸乙酯萃取 6 次, 每次 10 mL, 萃取液用少量水洗涤, 水洗液用少量乙酸乙酯萃取, 合并萃取液, 加少量无水硫酸钠脱水, 过滤, 无水硫酸钠用少量乙酸乙酯洗涤, 回收至干, 用乙醇定容 10 mL ($n=3$)。

测定:精密吸取各试验设计中样品液 4 μL 分别点于薄层板上, 同时精密吸槲皮苷标准液 2.5 μL 分别点于同一薄层板上, 按标准曲线项下展开, 紫外灯下定位, 扫描测定, 根

据随行对照品量采用外标二点法计算含量, 结果见表 3、图 1。

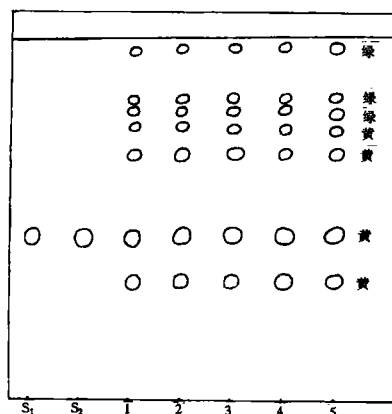


图 1 侧柏叶不同实验薄层图

数据处理:将实验结果进行多元线性回归统计处理, 回归方程 $Y = 0.14104 + 0.000352X_1 + 0.0002X_2 - 0.00019X_3$, 方差分析见表 4。

表 4 方差分析

变差来源	平方和	自由度	均方	F
回归	0.000729	3	0.000243	121.5
剩余	0.0000002	1	0.000005	
总和	0.000731	4		

因为 $F = 121.5 > F_{(3,1)}^{0.1} = 53.6$, 回归方程在 $\alpha = 0.10$ 的水平上有意义。在所考察的实验条件范围内, 使槲皮苷含量最高的实验条件为乙醇浓度是 70%, 浸泡时间是 28 h, 乙醇用量为 80 mL。含量最优值为 $Y = 0.15604\%$ 。

上述回归方程有意义, 但在 $\alpha = 0.05$ 水平上不显著, 因此进行多元非线性回归, 得回归方程 $Y = -0.41915 + 0.013672X_1 + 0.002502X_2 + 0.001093X_3 - 6.9 \times 10^{-5}X_1^2 - 4.8 \times 10^{-5}X_2^2 + 1.49 \times 10^{-5}X_3^2 - 4.6 \times 10^{-5}X_1X_3$, 通过用求多元函数的最大值的方法得在所考察的实验条件范围内, 使槲皮苷含量最高的实验条件为乙醇浓度是 73%, 浸泡时间 26 h, 乙醇用量 77 mL。含量最优值为 $Y = 0.158\%$ 。

2.2.3 纯化样品液的制备、测定与数据处理:精密称取侧柏叶粗粉 10 g, 按已优化的提

取工艺即用 73%乙醇,浸泡 26 h,乙醇用量 77 mL 渗漉提取,回收乙醇至干,按表 3 U₅ (5⁺)试验表纯化工艺进行实验,其步骤及样品液测定按提取侧柏叶中槲皮苷样品液制备项下操作。

数据处理:将实验结果进行多元线性回归,得回归方程 $Y = 0.3588 - 0.00257X_1 + 0.000432X_2 - 0.00533X_3 - 0.00105X_4$,通过方差分析知回归方程无显著意义。再进行逐步回归(去掉氯化钠因素)得回归方程为 $Y = 0.348981 - 0.00238X_1 - 0.00495X_3 - 0.00097X_4$,方差分析为 $F = 9.55 < F_{(3,1)}^{0.1} = 53.6$,故回归方程仍无显著意义。通过计算标准回归系数知 pH 值对含量影响不大,第 3 次回归,得回归方程 $Y = 0.323541 - 0.002236X_1 - 0.000896X_4$ 。方差分析知 $F = 22.59 > F_{(2,2)}^{0.05} = 19$,回归方程有显著意义。

回归方程知,在所考察的实验条件内,减少用水量和减少萃取溶剂的用量能使槲皮苷含量增加。若提取物加水 20 mL 溶解,用乙

酸乙酯萃取 6 次,每次 5 mL,可使槲皮苷含量达到 0.2519%。

3 讨论

3.1 经二次均匀设计共 10 次实验,找到了从侧柏叶中提取纯化槲皮苷的最佳试验条件,并发现在纯化工艺中,氯化钠及 pH 值对试验结果影响不大,此进一步证明均匀设计法可以经方程分析各因素对试验影响,而删去不重要因素。

3.2 实验结果表明,从侧柏叶提取纯化槲皮苷的工艺为 73%乙醇渗漉提取,渗漉前浸泡 26 h,乙醇用量为 77 mL,回收醇至干,加水 20 mL,用乙酸乙酯萃取 6 次,每次 5 mL,可达到含量的最大值。此结果进一步证明了均匀设计法在中草药有效成分提取分离上的应用,可用此方法预测提取及初步分离方法。

参考文献

- 1 孙文基,等. 药学学报,1987;22(5):385
- 2 王 鹏,等. 沈阳药学院学报,1988;41(4):297
- 3 李卫民,等. 中药材,1993;16(6):30

(1998-04-08 收稿)

Optimizing the Extraction and Purification Processes of Quercitrin from Leaves of Chinese Arborvitae (*Platycladus orientalis*) by Homogeneous Design

Zeng Quan, Yi Denglu, Wu Hongyuan, et al. (China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

Abstract Processes for the extraction and purification of quercitrin from leaves of *Platycladus orientalis* (L.) Franco were explored by the use of homogeneous design. Results showed that the ratio and concentration of ethyl alcohol used for the extraction, as well as the duration of extraction directly affected the yield of quercitrin, while sodium chloride and pH showed only minimum influences.

Key words *Platycladus orientalis* quercitrin TLC scanning homogeneous design

1999 年《中国药学文摘》刊物及光盘征订启事

《中国药学文献》是我国唯一的药学科技文献综合性大型检索刊物。共设十二个栏目:药学理论、一般性药学综述和历史文献,生药学和中药材,药物化学,药物生产技术,药剂学和制剂技术,药理学和毒理学,生物药剂学,药物分析,临床试验与药物评价,药品生产管理和质量管理,制药设备和工厂设计,药品介绍与药品综述。并附有主题词和外文药名两套索引;每篇文献同时还标有《中国图书资料分类法》的分类号。85、95 年被国家科委评为科技文献检索刊物一等奖;96 年被评为国家优秀科技信息成果二等奖。

《中国药学文献数据库》是国内唯一的中西药文献大型数据库。该库自 1981 年今已拥有近 20 万条数据。提供 2 万多条数据,并提供微机检索软件和光盘。本库 84 年通过部级鉴定,1985 年被评为国家科技进步三等奖。