

声场的介入可有效强化甘草酸的提取过程,缩短提取时间,提高提取率,但超声波提取只适合实验室研究,而不适合大批量的工业生产^[5,6]。

3 讨论

微波是频率介于300 MHz和300 GHz之间的电磁波,微波加热是利用微波场中介质的偶极子转向极化与界面极化的时间与微波频率吻合的特点,促使转动介质能级跃迁,加剧热运动,将电能转化为热能。微波加热克服了一般加热过程的热传导、热辐射造成的热量损失,热效率较高,升温快速均匀,大大缩短了萃取时间,提高了萃取效率。此外,在微波场中,介电常数不同的物质,其吸收微波能的能力不同,从而使基体物质的某些区域或萃取体系中的某些组份被选择性加热,因而可使目标组份选择性地从基体或体系中分离出来^[7,8]。本实验正是基于对微波提取的特点,将该技术应用于甘草酸的提取,并与其他方法作了比较。结果表明,采用微波萃取技术提取甘草中的甘草酸,在实际生产过程中具有安全、节能、快速、高效和选择性好的特点,值得推广应用。

致谢:本实验得到了中国亿利资源集团公司李秉经理和厦门大学开元区高新技术研究开发基地王文慎经理的帮助,在此一并表示感谢。

References:

- [1] Wang C L, Han Y S, Wang Y, *et al.* Original exploratory of acting on dedoxication adjusting many medicine of glycyrrhiza [J]. *Stud Trace Elements Health* (微量元素与健康研究), 1996, 13(3): 31-32.
- [2] Huang Y L. Extraction of glycyrrhizin from licorice [J]. *Guangzhou Food Ind Sci Technol* (广州食品工业科技), 1997, 13(3): 16-17.
- [3] Pan X J, Liu H Z, Jia G H, *et al.* Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root [J]. *Biochem Eng J*, 2000, 5: 173-177.
- [4] Cao A L, Chang S M, Zhang J M, *et al.* Investigation of the content of glycyrrhizic acid in licorice [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1998, 13(2): 280-281.
- [5] Zhao X, Li B T, Liu X, *et al.* Study on strengthening extraction of glycyrrhizic acid by ultrasound field [J]. *Food Sci Technol* (食品科技), 2000, 5: 38-39.
- [6] Gao S L, Wang X M. Extraction and determination of triterpene and flavonoid constituents isolated from the *Glycyrrhiza* [J]. *J Anhui Univ - Nat Sci* (安徽大学学报·自然科学版), 2000, 24(4): 70-74.
- [7] Chen M, Yuan D X, Xu P X. Research progress on microwave extraction [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 1999, 18(2): 82-86.
- [8] Zhang D J, Liu C B, Xiu Z L, *et al.* Application of microwave technology to the extraction of active constituents in plants [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(9): 5-6.

正交试验法优选槐米中槲皮素的提取工艺

何 勤¹, 徐雄良¹, 柯尊洪², 张志荣¹, 李立立^{1*}

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 成都康弘科技实业(集团)有限公司, 四川 成都 610041)

摘要:目的 优选槐米中槲皮素的提取工艺。方法 采用正交试验法,以提取物中槲皮素的含量和槲皮素的提取率为指标进行试验。结果 优选出从槐米中提取槲皮素的最佳工艺为:用10倍量的0.05%氢氧化钠溶液煮沸4次,每次20 min,调节pH值至6,取沉淀加10倍量的4%硫酸溶液煮沸水解1 h。结论 该工艺可提高槐米中槲皮素的提取率和纯度。

关键词:槐米;槲皮素;正交试验

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2003)05-0409-04

Orthogonal test for optimization of quercetin extracting procedure from bud of *Sophora japonica*

HE Qin¹, XU Xiong-liang¹, KE Zun-hong², ZHANG Zhi-rong¹, LI Li-li¹

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Chengdu Kanghong Science & Technology Industry (Group) Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

Abstract: **Object** To select the optimum extracting procedure for quercetin from bud of *Sophora japonica* L. **Methods** The optimum extracting procedure was selected with the content and extraction efficiency of quercetin from bud of *S. japonica* by orthogonal test design. **Results** The optimum extracting procedure was

* 收稿日期:2002-08-16

基金项目:四川省重点科技项目:中药制剂现代化研究(01SG008-01)

作者简介:何 勤(1968—),女,四川广元人,博士,副教授,研究方向为中西药物新制剂和新剂型。

Tel: (028) 85502532 Fax: (028) 85456898 E-mail: qinhe317@vip.sina.com

determined with 10 times of 0. 05% sodium hydroxide decocting 20 min and 4 times, adjusting pH value to 6, hydrolyzing with 10 times of 4% sulfuric acid for 1 h after precipitated. **Conclusion** The optimum extracting procedure increased the content and extraction efficiency of quercetin from bud of *S. japonica*.

Key words: the bud of *Sophora japonica* L.; quercetin; orthogonal test

槐米为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾, 具有凉血止血, 清肝泻火之功效, 用于多种血热出血症、肝火上炎之头痛、目赤等症。槐米主要含芦丁(rutin)、桦皮醇(betulin)、槐二醇(sophoradiol), 以及槐花米甲、乙、丙素(sophorin A, B, C), 还含有槲皮素(quercetin)、槐花皂苷 I, II, III(kaikasaponin I, II, III) 等^[1]。芦丁在酶或酸的作用下被水解成槲皮素。现代药理研究表明, 槲皮素具有较好的祛痰、止咳作用, 并具有一定的平喘作用, 此外还具有降低血压、增强毛细血管抵抗力、调血脂、扩张冠状动脉、增加冠脉血流量等作用^[2]。

文献^[3]报道从槐米中提取芦丁的方法, 并且对不同的提取条件进行了考察。而通过正交试验从槐米中直接提取槲皮素的方法均未见报道。本研究通过正交试验法考察了碱溶酸水解法提取槲皮素的主要影响因素, 这对利用槐米中的槲皮素作为药效成分的中药制剂以及利用槐米来提取槲皮素具有一定的参考意义。

1 仪器与试药

日本岛津 LG-10Avp 高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外可见光检测器, CLASS-VP V5. 03 色谱数据处理工作站, BP211D 十万分之一电子天平(Sartorius, 德国); 槲皮素对照品(供含量测定用, 0081-9904, 中国药品生物制品检定所), 槐米药材购自四川省中药材公司, 经鉴定为豆科植物槐 *S. japonica* L. 的干燥花蕾; 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2. 1 正交试验设计: 从槐米中提取槲皮素需先提取芦丁, 再经水解后生成槲皮素。芦丁的提取方法主要有碱溶酸沉淀法、有机溶剂提取法、浸渍法。其中以碱溶酸沉淀法最佳, 生产上均采用该法^[4]。文献^[5]选择 0. 05% 氢氧化钠溶液煮沸 20 min, 趁热滤过, 同法提取 4 次的工艺, 得到芦丁的碱水溶液, 加酸使其析出, 过滤后再加酸使其水解而得到不溶于水的槲皮素, 滤过、水洗、干燥而得槲皮素固体。芦丁的提取率直接影响槲皮素的产率, 有文献报道^[6]芦丁在 pH 2. 0, 3. 5, 6. 0 的溶液中提取率最大, 而芦丁的水解时间为 90 min 最佳。经试验, 影响芦丁的

提取率和槲皮素产率的主要因素是: 芦丁沉淀时的 pH 值、芦丁水解时加入的酸量以及水解时间。结合文献和预试结果, 以上述 3 个主要因素为考察因素, 每个因素设立 3 个水平(表 1), 采用 L₉(3⁴) 正交设计, 以槐米提取物中的槲皮素含量和提取率为指标, 优选槲皮素的制备工艺, 试验安排及结果见表 2。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 沉淀 pH	B 加酸量/倍	C 水解时间/h
1	2	8	1. 0
2	4	10	1. 5
3	6	15	2. 0

表 2 正交设计及数据处理表(n= 3)

Table 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test (n= 3)

试验号	A	B	C	D(误差)	固体提取率/%	槲皮素含量/%	槲皮素提取率/%
1	1	1	1	1	11. 80	57. 93	6. 83
2	1	2	2	2	10. 95	60. 10	6. 58
3	1	3	3	3	10. 58	61. 40	6. 48
4	2	1	2	3	10. 88	61. 65	6. 71
5	2	2	3	1	10. 78	67. 34	7. 23
6	2	3	1	2	10. 62	67. 51	7. 16
7	3	1	3	2	8. 77	74. 77	6. 56
8	3	2	1	3	9. 18	79. 06	7. 24
9	3	3	2	1	8. 82	78. 58	6. 92
固体提取率	K ₁	11. 11	10. 48	10. 53	10. 46		
	K ₂	10. 76	10. 30	10. 21	10. 11		最优
	K ₃	8. 92	10. 00	10. 04	10. 21		A ₁ B ₁ C ₁
	R	2. 19	0. 48	0. 49	0. 35		
槲皮素含量	K ₁	59. 81	64. 78	68. 16	67. 95		
	K ₂	65. 50	68. 83	66. 77	67. 46		最优
	K ₃	77. 47	69. 16	67. 83	67. 36		A ₃ B ₃ C ₁
	R	17. 66	4. 38	1. 39	0. 59		
槲皮素提取率	K ₁	6. 62	6. 70	7. 07	6. 99		
	K ₂	7. 03	7. 02	6. 73	6. 76		最优
	K ₃	6. 90	6. 85	6. 75	6. 81		A ₂ B ₂ C ₁
	R	0. 41	0. 32	0. 34	0. 23		

2. 2 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack CLG-ODS 柱(6. 0 mm×150 mm, 5 μm, 日本岛津), 流动相为甲醇-0. 4% 磷酸溶液(7: 3), 流速为 0. 8 mL/min, 检测波长为 375 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 5 μL。理论板数按槲皮素峰计算不低于 4 000。

2. 3 对照品溶液的制备: 精密称取在 105 ℃减压干燥至恒重的槲皮素对照品适量, 加甲醇制成 10 μg/mL 的溶液, 即得。

2.4 供试品溶液的制备: 分别准确称取槐米 20 g, 按表 2 安排试验, 加入已煮沸的 10 倍量 0.05% 氢氧化钠溶液中, 煮沸 20 min, 趁热滤过, 同法提取 4 次, 滤过, 合并滤液, 滤液用硫酸溶液 (1→2) 调节 pH, 静置, 过滤, 抽干, 得黄色沉淀物芦丁, 加适量的 4% 硫酸溶液微沸水解, 静置, 冷却, 过滤, 沉淀水洗, 干燥, 移置干燥器中放冷, 称定固体的质量, 每一试验重复 3 次。

取上述固体约 15.0 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇约 40 mL, 超声 10 min 使溶解, 放至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。色谱图见图 1。

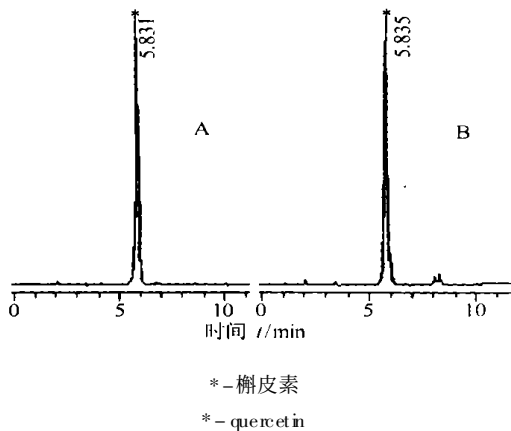


图 1 槲皮素(A)和槐米(B)的 HPLC 图谱
Fig 1 HPLC chromatograms of quercetin (A) and bud of *S. japonica* (B)

2.5 结果与方差分析: 见表 2, 3。从表 2 可知, 以固体提取率为指标, 最优工艺为 A₁B₁C₁, 说明芦丁沉淀时的酸度越大、水解时的酸量越少、水解时间越短, 固体提取率越大。以固体中槲皮素的含量为指标, 最优工艺为 A₃B₃C₁, 说明芦丁在酸度越小的溶液中沉淀时, 槲皮素的含量越高。若以槐米中槲皮素的提取率为指标, 最优工艺为 A₂B₂C₁。

表 3 结果表明, 芦丁沉淀时的 pH 值对固体提取率和固体中槲皮素的含量影响的差异具有非常显著性, 而对槐米中槲皮素的提取率影响不明显。水解时的酸量仅对固体中槲皮素的含量影响的差异具有显著性, 水解的时间对三者均不明显。

2.6 验证试验: 通过正交试验, 本实验同时考虑固体中的槲皮素含量和槲皮素的提取率, 选择槐米中槲皮素提取的最优工艺为 A₃B₂C₁。经验证, 固体的平均提取率为 8.71%, 固体中槲皮素的平均含量为 79.61%, 槲皮素的平均提取率为 7.14% (n=5), 说明上述工艺达到了优化的目的。

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

方差来源	SS	自由度	方差	F 值	P
固体提取率	A	24.89	2	12.44	22.39 < 0.01
	B	1.05	2	0.52	0.94
	C	1.11	2	0.55	1.04
	D	0.60	2	0.30	
	SSe	10.00	18	0.56	
	误差	10.60	20	0.53	
总变异	37.64				
槲皮素含量	A	1462.56	2	731.28	63.29 < 0.01
	B	107.20	2	53.60	4.64 < 0.05
	C	9.44	2	4.72	0.41
	D	1.76	2	0.88	
	SSe	229.31	18	12.74	
	误差	231.07	20		
总变异	1810.27				
槲皮素提取率	A	0.77	2	0.39	2.37
	B	0.46	2	0.23	1.41
	C	0.65	2	0.32	1.98
	D	0.26	2	0.13	
	SSe	3.01	18	0.17	
	误差	3.27	20		
总变异	5.15				

$F_{0.05}(2, 20) = 3.49 \quad F_{0.01}(2, 20) = 5.85$

3 讨论

3.1 供试品溶液的含量测定: 取供试品溶液于 375 nm 波长处测定, 结果表明在上述色谱条件下, 供试品中的杂质峰很小, 分离效果佳。

3.2 本实验选用煮沸的 0.05% 氢氧化钠溶液提取芦丁, 不仅增强芦丁的浸出效率, 而且起到杀酶作用, 减少芦丁损失。经测定, 芦丁提取液的 pH 值约为 6, 只须加少量的硫酸溶液就可调至酸性。

3.3 芦丁经碱溶酸沉后得到黄色的稠厚沉淀, 需加入 5 倍生药量的酸液才使之混悬, 因此考察水解的酸量选择 8, 10, 15 倍 3 个水平。

3.4 本实验还考察了芦丁在 pH 6 条件下沉淀后, 其滤液在 pH 4 时再沉淀的情况, 发现第二次沉淀为黑褐色的膏状物质, 进一步说明芦丁沉淀时的酸度越小槲皮素的含量越高; 酸度越大固体提取率越大, 固体中的杂质越多。

References:

[1] Yin J, Guo L G. *Modern Research and Clinical Application of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与临床应用) [M]. Vol 2. Beijing: Traditional Chinese Medicine and Ancient Book Publishing House, 1995.

[2] Hou S L. *Illustration of 800 Kinds Chinese Medicinal Plants* (中药 800 种详解) [M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Publishing House, 1999.

[3] Xia X K. Study on the optimum acidity under technological process of extracting rutin from bud of *Sophora japonica* L. [J]. *Acta Nandu - Nat Sci* (南都学坛·自然科学版), 1999, 19 (3): 67-69.

[4] Ji D Z. Rutin extracted by the basic water cold-soak method [J].

JSichuan Univ -Nat Sci (四川大学学报·自然科学版), 1991, 28(2): 265-267.

- [5] Chao C L. *Handbook of Preparations of Chinese Medicinal Plants* (中药制剂汇编) [M]. Beijing: People's Medical Pub-

lishing House, 1983.

- [6] Tang A L, Liu N, Cheng N Q. A study of pH influence on rutin extraction and technics of preparation of quercetin [J]. *J Guilin Med Coll* (桂林医学院学报), 1994, 7(3): 29-32.

炮制对虎杖中白藜芦醇苷和大黄素的影响

江海燕, 朱 华, 黄慧学, 黄 拓, 蒋利林*

(广西中医学院药学院, 广西 南宁 530001)

摘 要:目的 探讨炮制对虎杖及其炮制品中有效成分的影响。方法 采用薄层色谱法对炮制品中白藜芦醇苷和大黄素进行定性分析, 并采用薄层扫描法和 HPLC 法对大黄素进行定量分析。结果 酒炙品、醋炙品、盐炙品中大黄素含量与生品相比有不同程度的增加。结论 不同炮制方法、辅料对虎杖中大黄素含量有一定的影响。

关键词:虎杖; 白藜芦醇苷; 大黄素; 炮制; 薄层扫描; 高效液相色谱

中图分类号: R283. 1; R286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)05-0412-04

Effects of processing on piceid and emodin in *Polygonum cuspidatum*

JIANG Hai-yan, ZHU Hua, HUANG Hu+ xue, HUANG Tuo, JIANG Li-lin

(School of Pharmacy, Guangxi College of TCM, Nanning 530001, China)

Abstract: **Object** To investigate the effects on the active components in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. and its different processed products. **Methods** The qualitative analysis of piceid and emodin are taken by TLC, and content of emodin was determined by TLCS and HPLC. **Results** The contents of emodin significantly increased in samples fried with rice wine, vinegar and salt compared with the crude. **Conclusion** Different methods and ajuvants made a certain influence on the contents of emotion in *P. cuspidatum*.

Key words: *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.; piceid; emodin; processing; TLCS; HPLC

虎杖, 又名大叶蛇总管(《广东中草药》)、斑根紫金龙(《植物名实图考》)、苦杖(《本草拾遗》)、阴阳莲(《南宁市药物志》), 为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥块茎和根, 其性微寒, 味微苦。具有清热利湿、散瘀定痛、通便解毒、止咳化痰等功效。用于关节痹痛, 湿热黄疸, 经闭, 痂, 水火烫伤, 跌扑损伤, 痈肿疮毒, 咳嗽痰多^[1]。传统炮制方法首载于《千金翼方》:“去头脑, 洗去土, 燥切”。《雷公炮制论》记载有“虎杖, 采得后, 细研, 却用虎杖叶裹一夜, 出煞干用”。《重修政和经史类备用本草》记载:“虎杖取根, 以汤入器中, 渍五七日, 冷乃易, 日换三、四遍, 洗去涎, 暴干用之或再炮”。现代炮制以“洗净, 闷润至透, 切厚片”的润品为主。虎杖含蒽醌类和 类化合物, 其中蒽醌类成分大黄素具有抗菌、抗肿瘤、解痉、杀灭钩端螺旋体的作用; 类成分白藜芦醇苷为其调血脂有效成分, 具有对

心血管、微循环系统的影响, 并且对血小板聚集、呼吸系统有作用^[2]。近年来虎杖的研究多限于化学成分及药理研究, 其炮制工艺研究则较少。本实验对虎杖的生品、酒炙品、醋炙品和盐炙品进行了分析, 以期为探讨虎杖不同炮制品有效成分变化的规律, 完善虎杖饮片质量标准提供实验参考依据。

1 材料和仪器

虎杖药材饮片购于广西南宁药材站, 经本院朱华博士鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥块茎和根; 白藜芦醇苷(批号 1535-200001)和大黄素(批号 0756-200009)对照品均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯, 其余均为分析纯。

LG-8A 高效液相色谱仪(日本岛津), CS-9000 薄层扫描仪(日本岛津), LG16-W 高速离心机(北京医用离心机厂), SB3200-T 超声器(上海 Branson),

* 收稿日期: 2002-06-24

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(0135028)

作者简介: 江海燕(1958—), 女, 副教授, 主持或承担省部级课题 9 项, 已发表专业论文 20 余篇, 出版教材与专著 5 部, 主要研究方向为药品质量控制与中药炮制质量研究。Tel: (0771) 3137585 Fax: (0771) 3140360 E-mail: jhyw@sina.com