

超声循环法提取扁蓄总黄酮

袁春玲, 郭伟英*

(锦州医学院药学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要:目的 在超声条件下寻找提取扁蓄总黄酮的优化条件。方法 采用正交设计法, 以超声功率、超声时间、提取温度、溶剂体积分数为因素, 每个因素 3 个水平, 用紫外分光光度法测定总黄酮作为评价指标。结果 最佳提取条件为超声功率 800 W, 超声时间 105 (35×3) min, 提取温度 40 ℃, 溶剂体积分数 65%。最佳提取条件下总黄酮的质量分数为 1.908%。结论 采用超声循环提取技术提取扁蓄中总黄酮, 提取温度低、时间短, 提取效率高, 具有广阔前景。

关键词:扁蓄; 黄酮; 超声循环提取; 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(2006)09-1336-03

Ultrasonic and circulated extraction of total flavones from *Polygonum aviculare*

YUAN Chun-ling, GUO Wei-ying

(School of Pharmacy, Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China)

Key words: *Polygonum aviculare* L.; flavones; ultrasonic and circulated extraction; orthogonal test

扁蓄别名扁竹、竹节草、猪牙草等^[1], 为蓼科植物扁蓄 *Polygonum aviculare* L. 的地上部分, 全国大部分地区均产。扁蓄除利尿、抑菌作用外, 尚有缓下、驱蛔、降压、止血、利胆等作用^[1,2]。扁蓄是一种理想的治疗非胰岛素依赖性糖尿病的药物^[3], 因此具有极大的开发价值。但是对其化学成分的提取研究还停留在以水或醇为溶剂加热回流的阶段, 其提取率低, 提取时间长。

随着现代科学技术的发展, 超声技术已广泛应用于中药有效成分的提取。本研究采用超声技术对扁蓄中总黄酮进行提取, 确定影响效果的主要因素和超声提取黄酮的优化工艺条件, 为有效地提取扁蓄中的总黄酮开辟了新途径。

1 仪器和材料

TU—1800 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 弘祥隆 HF—2.0B 超声循环提取机(北京弘祥隆生物技术开发有限公司), LD4—2A 型低速离心机(北京医用离心机厂), TD 系列电子天平(天津市天平电子仪器有限公司), HH 恒温水浴锅(江苏金坛市中大仪器厂)。

扁蓄(安国市京兴药业有限责任公司, 由辽宁中医药大学贾天柱教授鉴定)粉碎, 过 80 目筛, 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所), 其他试剂均为 AR 纯。

2 方法与结果

2.1 总黄酮的测定^[4]

2.1.1 最大吸收波长的选择: 以 NaNO_2 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 和 NaOH 为显色剂分别做各样品提取液和芦丁对照品的吸收曲线, 均在 510 nm 处有一个强吸收峰, 因此选择 510 nm 为测定波长。

2.1.2 标准曲线的制备: 精确配制 0.1 mg/mL 芦丁对照品溶液, 分别取 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 各加 30% 乙醇使成 5.0 mL, 加入 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL 摇匀, 放置 6 min 后, 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL 摇匀放置 6 min 后加入 1 mol/L NaOH 溶液 4.0 mL, 再加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀放置 15 min 后于 510 nm 波长处测定吸光度, 绘制标准曲线。回归方程为 $Y = 10.657X + 0.0092$, $r = 0.999$, 其线性范围 0~0.05 mg/mL。

2.1.3 测定: 吸取 1 mL 被测液于 10 mL 量瓶中, 按标准曲线的制备项下方法处理, 于 510 nm 波长下测定吸光度值, 带入标准曲线方程, 计算各提取液中总黄酮的质量分数, 计算得率。

总黄酮得率 = 总黄酮的质量 / 药材的质量 × 100%

2.2 传统扁蓄总黄酮提取方法及测定: 按照代容春等^[5]对扁蓄总黄酮提取方法操作, 即 35% 乙醇, 固液比 1:10, 80 ℃ 水浴回流 1 h, 滤过后滤渣重复浸提 2 次。合并滤液, 减压浓缩至 100 mL, 置冰箱中过

收稿日期: 2006-01-13

作者简介: 袁春玲(1981—), 女, 辽宁省抚顺市人, 生药学专业硕士研究生, 主要研究方向为天然药物有效成分的提取及分离。

* 通讯作者 郭伟英 E-mail: wyguo@163.com

夜(使叶绿素沉淀)。将浓缩液滤过并定容至 100 mL,得总黄酮提取液,测定吸光度,计算总黄酮的质量分数为 1.264%。

2.3 单因素分析

2.3.1 溶剂体积分数的选择:取扁蓄 200 g,不同体积分数乙醇 2 000 mL,在功率 400 W,转数 1 000 r/min,室温下进行超声循环提取 20 min,测定,计算总黄酮的质量分数,见表 1。可以得出,乙醇体积分数为 20%时从节省溶剂的角度可以考虑,但是溶剂体积分数降低时大量水溶性杂质给后续工作带来大量麻烦。当乙醇体积分数为 65%时总黄酮的质量分数最高,因此选择 65%乙醇进行正交试验。

表 1 乙醇体积分数对总黄酮的影响

Table 1 Effects of ethanol concentration on total flavone yield

乙醇体积分数/%	总黄酮/%	乙醇体积分数/%	总黄酮/%
95	0.515	50	0.585
80	0.506	35	0.421
65	0.591	20	0.524

2.3.2 超声次数的选择:取扁蓄 200 g,80%乙醇 2 000 mL,在功率 400 W,转数 1 000 r/min,室温下进行超声循环提取,每次 20 min,测定,计算总黄酮的质量分数,见表 2。可以看出,随着提取次数的增加总黄酮的质量分数也随着增加,但是 3 次以后增加缓慢,因此提取 3 次即可。

表 2 超声次数对总黄酮的影响

Table 2 Effects of ultrasonic number of times on total flavones yield

提取次数	总黄酮/%	提取次数	总黄酮/%
1	0.556	3	1.056
2	0.787	4	1.065

2.3.3 超声时间的选择:取扁蓄 200 g,80%乙醇 2 000 mL,在功率 400 W,转数 1 000 r/min,室温下进行超声循环提取,每 10 min 取样 1 次,测定,计算总黄酮的质量分数,见表 3。可以看出,随着时间的增加总黄酮也在增加,但 40 min 以后增加趋缓,因此选择 40 min 左右进行正交试验。

表 3 超声时间对总黄酮的影响

Table 3 Effects of ultrasonic time on total flavone yield

提取时间/min	总黄酮/%	提取时间/min	总黄酮/%
10	0.447	40	0.637
20	0.506	50	0.639
30	0.512		

2.3.4 提取温度的选择:温度过高乙醇挥发严重,而且杂质溶出增加;温度过低,影响总黄酮在乙醇中的溶出。因此,综合考虑,选取 20、30、40℃进行正交

试验。

2.4 正交试验设计及各因素水平设置:选取超声功率(A)、超声时间(B)、提取温度(C)、溶剂体积分数(D)为主要考察因素,各因素及水平设置见表 4。采用 4 因素 3 水平正交表,即 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,在正交表安排的每个试验号条件下进行 3 次重复试验,见表 5。方差分析见表 6。

表 4 因素水平

Table 4 Factors and levels

水平	因 素			
	A 超声功率/W	B 超声时间/min	C 提取温度/℃	D 溶剂体积分数/%
1	400	90 (30,30,30)	20	55
2	600	105 (35,35,35)	30	60
3	800	120 (40,40,40)	40	65

表 5 $L_9(3^4)$ 正交试验及结果

Table 4 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	D	总黄酮/%			
					1	2	3	合计
1	1	1	1	1	1.003	1.163	1.226	3.392
2	1	2	2	2	1.590	1.640	1.687	4.917
3	1	3	3	3	1.604	1.645	1.669	4.918
4	2	1	2	3	1.635	1.627	1.608	4.870
5	2	2	3	1	1.436	1.631	1.713	4.780
6	2	3	1	2	1.407	1.320	1.385	4.112
7	3	1	3	2	1.707	1.727	1.743	5.177
8	3	2	1	3	1.668	1.654	1.636	4.958
9	3	3	2	1	1.455	1.575	1.697	4.727
I	13.227	13.439	12.462	12.899				
II	13.762	14.655	14.514	14.206				
III	14.862	13.757	14.875	14.746				
R	1.635	1.216	2.413	1.847				

表 6 方差分析

Table 6 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
A	0.154 4	2	0.077 2	12.8	$P<0.01$
B	0.088 4	2	0.044 2	7.3	$P<0.01$
C	0.376 4	2	0.188 2	31.1	$P<0.01$
D	0.200 4	2	0.100 2	16.6	$P<0.01$
E(误差)	0.108 8	18	0.006 0		

$$F_{0.01}(2,18)=6.01$$

采用极差法对正交试验结果进行分析,可以看出,扁蓄中总黄酮的最佳提取条件为 $A_3B_2C_3D_3$,即超声功率 800 W,超声时间 105 (35,35,35) min,提取温度 40℃,溶剂乙醇体积分数为 65%。 R 值可以看出,4 种因素对扁蓄中总黄酮提取效果的影响程度依次为提取温度>溶剂体积分数>超声功率>提取时间。

F 检验结果表明,超声功率、超声时间、提取温度、溶剂体积分数都有高度统计学意义,即对总黄酮

提取率都具有显著的影响。

2.5 最佳工艺验证试验:在最佳提取条件下进行 3 次重复试验,所提取的总黄酮的质量分数平均值为 1.908%,大于正交设计中结果,也远高于传统提取方法(1.264%)。

3 讨论

常规提取方法普遍存在时间长、温度高、提取效率低等缺点。采用低体积分数的乙醇作为提取溶剂虽然成本较低又安全,但是提取液中含有较多的蛋白质和糖类等易溶于水的成分,在存放过程中易腐败变质,后续的滤过、浓缩和纯化等操作困难费时,温度高,能源浪费严重,且乙醇容易挥发。由此可见,超声提取尤其适合那些不适合高温或长时间提取的物质。另外本研究采用超声循环技术对扁蓄中总黄

酮进行提取,循环技术应用于超声提取中使药液更能均匀受热和接触超声波,提高了提取效率。

References:

- [1] Liu Q H, Liu Y C. *Practical Herbs* (实用植物本草) [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Publishing House, 1998.
- [2] Cui S D. *Traditional Chinese Medicine* (中药大全) [M]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Publishing House, 1989.
- [3] Zhao R F. 25 Cases clinical observation of healing diabetes useing *Polygonum aviculare* L. [J]. *J Nantong Med Coll* (南通医学院学报), 1995, 15 (2): 274-275.
- [4] Dai R C, He W J, Chen P Q, et al. Determination of flavones in *Polygonum aviculare* L. [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2003, 22 (6): 66-68.
- [5] Dai R C, He W J, Liu P, et al. Comparison of extracting procedure of total flavones in *Polygonum aviculare* L. [J]. *J Plant Resour Environm* (植物资源与环境杂志), 2003, 12 (3): 53-54.

当归挥发油的 GC 指纹图谱研究

阮 健^{1,3}, 王凤山¹, 车 鑫², 李春玲², 刘 珂^{2*}

(1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003;

3. 烟台市药品检验所, 山东 烟台 264000)

摘 要:目的 建立当归挥发油指纹图谱的测定分析方法,为当归挥发油的质量控制提供参考。方法 采用水蒸气蒸馏法提取当归挥发油,用 GC 对其进行指纹图谱测定,并采用中国药品生物制品检定所推荐的中药指纹图谱计算软件进行计算,建立当归挥发油的共有指纹峰。结果 精密度、重现性、稳定性试验中共有峰相对峰面积、相对保留时间的 RSD 均小于 3%。结论 该方法准确可靠,重复性好,可用于当归挥发油的质量控制。

关键词:当归;挥发油;指纹图谱;质量控制

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)09-1338-04

Fingerprint chromatography of volatile oil from *Angelica sinensis* by GC

RUAN Jian^{1,3}, WANG Feng-shan¹, CHE Xin², LI Chun-ling², LIU Ke²

(1. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China; 2. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China; 3. Yantai Institute for Drug Control, Yantai 264000, China)

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; volatile oils; fingerprint; quality control

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,主产于我国甘肃、云南、四川、山西、湖北等地。当归性甘、辛、温,归肝、心、脾经,具补血活血,调经止痛,润肠通便之功效^[1]。挥发油为其主要的活性部位,主要成分为萜本内酯。当归挥发油在平喘、中枢抑制、镇痛以及对免疫功能的影响等方面具有广泛的药理活性^[2],在临床上可以用

于妇女痛经,产后宫缩痛及感染性腹泻引起的急性腹痛^[3]。为评价当归的质量,本实验选用 10 个不同产地的当归提取挥发油,建立当归油的 GC 指纹图谱,为当归药材的质量评价提供依据。

1 仪器和材料

Agilent 6890 气相色谱仪, FID 检测器; Agilent 6890—5973 GC-MS 联用仪;聚甲基苯基乙烯基硅

收稿日期:2005-11-28

作者简介:阮 健(1970—),女,山东省烟台市人,山东大学药学院在读硕士研究生。

Tel: (0535) 6243276-8007 E-mail: ruan8007@tom.com

* 通讯作者 刘 珂 Tel: (0535) 6713858 E-mail: liuke@luye-pharm.com