

## References:

- [1] Chen Y P, Li G X, Wu P, et al. The reason and prevention for the adverse reaction of *Cortex Periplocae* [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2005, 25 (7): 689.
- [2] Wang S N. *The Manual of Drug Poison Remedy* (药物中毒救治手册) [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 1962.
- [3] Liu H, Pan G X, Gao X M, et al. Determination of periplocin in the *Cortex Periplocae* by high performance liquid chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (5): 578-579.

## 正交设计优选蔓荆子中总黄酮的提取工艺

尹文清<sup>1</sup>, 陈柳生<sup>1</sup>, 王力生<sup>2</sup>, 张青松<sup>1</sup>

(1. 广西师范大学化学化工学院, 广西 桂林 541004; 2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004)

蔓荆子始载于《神农本草经》, 被列为上品, 为马鞭草科牡荆属多年生落叶小灌木单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或三叶蔓荆 *V. trifolia* L. 的干燥成熟果实, 主要产于山东、江西、浙江、福建、广东、广西及云南等地, 具有疏散风热、清利头目、止痛的功效<sup>[1]</sup>。民间常用于治疗感冒、头痛、周期性头痛及眼痛等<sup>[2]</sup>。其主要活性成分为黄酮类化合物, 具有抗炎、降低血压、抗癌、镇痛等多种药理活性<sup>[3]</sup>。本实验通过  $L_9(3^4)$  正交试验优选出蔓荆子中黄酮类化合物的提取工艺条件, 为蔓荆子的综合利用提供了依据。

## 1 材料、试剂与仪器

蔓荆子由广西桂林市临桂县广益农业开发有限公司提供, 经广西师范大学生命科学学院教研室鉴定为单叶蔓荆 *V. trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 的干燥成熟果实。芦丁对照品由中国药品生物制品检定所提供, 其他试剂均为分析纯。

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), 电子天平(沈阳龙腾电子称量仪器有限公司), B-220 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂)。

## 2 方法与结果

2.1 蔓荆子中总黄酮的 UV 法测定<sup>[4]</sup>

2.1.1 标准曲线的绘制: 准确称取干燥至恒重的芦丁对照品 10 mg, 用无水乙醇水浴微热溶解, 并完全转入 50 mL 量瓶中, 用无水乙醇定容, 得 0.200 0 mg/mL 的芦丁对照品溶液。精密吸取 0、0.25、1.00、2.00、3.00、4.00 mL 上述芦丁对照品溶液, 分

别置于 7 支 10 mL 刻度试管中, 加 5%  $\text{NaNO}_2$  0.30 mL, 摇匀后放置 6 min, 加 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  0.30 mL, 摇匀后放置 6 min, 加 4%  $\text{NaOH}$  2.00 mL, 再用无水乙醇稀释成刻度, 摇匀后放置 15 min, 于 510 nm 处测定吸光度(以第一管为测定空白)。芦丁质量浓度( $C$ )与吸光度( $A$ )进行线性回归, 得回归方程:  $A = 0.0104C - 0.0071$ ,  $r = 0.9998$ 。结果表明芦丁在 5~80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与吸光度线性关系良好。

2.1.2 样品的测定: 精密地称取 10 g 干燥至恒重的蔓荆子 9 份, 回流提取。提取液减压浓缩后水沉, 滤过后定容到 250 mL 量瓶中, 分别精密地吸取上述 2 mL 溶液, 按标准曲线的绘制项下方法操作, 测定吸光度, 根据回归方程计算样品中黄酮类化合物的量。

2.2 提取溶剂的选择: 蔓荆子中的主要黄酮类化合物是紫花牡荆素, 其他黄酮的量较少。紫花牡荆素不溶于水, 易溶于甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯、氯仿等有机溶剂。乙醇毒性小、渗透性强、易于回收、价格也比较便宜, 因此选定不同体积分数的乙醇为提取溶剂。

2.3 提取次数的选择: 称取 10 g 蔓荆子干燥粉末, 加入 50 mL 70% 乙醇, 在 85  $^{\circ}\text{C}$  下提取 4 h, 然后将提取过的粉末分别在相同条件下进行第 2、3、4 次提取, 结果各次总黄酮的提取率分别为 0.639 2%、0.158 9%、0.126 6%、0.072%, 表明, 经过 3 次提取, 可以认为总黄酮基本提取完全。

2.4 正交试验设计: 根据已有的资料和实际情况, 选用乙醇体积分数、固液比、提取时间、提取温度作为考察因素, 以蔓荆子中总黄酮的提取率为考察指标, 选用  $L_9(3^4)$  正交表设计, 因素水平见表 1。正交

收稿日期: 2006-05-04

基金项目: 广西教育厅科研资助项目(桂教科研[2004]20号)

作者简介: 尹文清(1968—), 女, 湖南省郴州市人, 副教授, 博士, 现在桂林三金药业股份有限公司博士后科研工作站从事科研工作, 主要从事天然产物化学的研究。E-mail: Yinwq0000@yahoo.com.cn

试验结果及方差分析见表 2、表 3。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A 乙醇体积 分数/%	B 固液比/ (g : mL)	C 提取 时间/h	D 提取 温度/℃
1	50	1 : 5	2	55
2	70	1 : 10	3	70
3	90	1 : 15	4	85

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验结果

Table 2 Results of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test

编号	A	B	C	D	总黄酮/%
1	1	1	1	1	0.407 7
2	1	2	2	2	0.422 1
3	1	3	3	3	0.581 0
4	2	1	2	3	0.587 4
5	2	2	3	1	0.375 2
6	2	3	1	2	0.500 5
7	3	1	3	2	0.377 5
8	3	2	1	3	0.387 0
9	3	3	2	1	0.261 7
K <sub>1</sub>	1.410 8	1.372 6	1.295 2	1.044 6	
K <sub>2</sub>	1.463 1	1.184 3	1.271 2	1.300 1	
K <sub>3</sub>	1.026 2	1.342 2	1.333 7	1.555 4	
R	0.145 6	0.062 7	0.020 9	0.170 3	

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	自由度	离差平方和	方差	F 值	显著性
A	2	0.037 95	0.018 97	57.2	P<0.05
B	2	0.006 84	0.003 42	10.3	
C(误差)	2	0.000 66	0.000 33		
D	2	0.043 49	0.021 74	65.5	P<0.05

实验结果分析可知,影响蔓荆子总黄酮提取的主次因素为 D>A>B>C,即提取温度>乙醇体积分数>固液比>提取时间。最佳提取工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即 5 倍量的体积分数为 70% 的乙醇在 85℃ 下提取 4 h 为最佳提取工艺。方差分析可知,A 因素和 D 因素为显著因素,B 因素和 C 因素为不显著因素,即提取温度、乙醇的体积分数对提取蔓荆子总黄酮有显著影响。

### 2.5 最佳提取工艺的验证:精密称取 3 份干燥的蔓

(上接第 188 页)

植物忽地笑中主要次生代谢物,加兰他敏的氢溴酸盐已被国内外用于轻至中度阿尔茨海默综合症的治疗。通过对忽地笑中有效成分加兰他敏的分析评价,对进一步开发利用石蒜属资源提供了实验依据。

### References:

[1] Wang R S. The ecogeography concerning genus *J. Lycoris* [J]. *Southwest Forest Coll* (西南林学院学报), 1999, 10(1): 41-48.

荆子各 10 g,按最佳工艺条件平行操作,测定吸光度,根据回归方程得出蔓荆子中总黄酮的提取率,结果见表 4。

表 4 最佳工艺的验证

Table 4 Results of optimum technology

批号	总黄酮/%
1	0.654 3
2	0.639 2
3	0.620 0

结果表明:用最佳工艺条件提取,总黄酮的提取率均高于其他各正交试验值,故本最佳工艺条件合理,同时也表明此工艺具有较好的稳定性。

### 3 讨论

3.1 蔓荆子中所含的黄酮类化合物一般以苷元的形式存在,易溶于氯仿、醋酸乙酯、乙醇、甲醇等有机溶剂中,难溶于水。所以在提取后采取了浓缩后水沉,除去一些水溶性有色物质,以降低分光光度法测定总黄酮的误差。

3.2 蔓荆子中总黄酮的最佳提取条件为:乙醇的体积分数为 70%,固液比为 1 : 5,提取时间为 4 h,提取温度为 85℃。方差分析表明,提取温度和乙醇的体积分数是影响提取效果的显著因素,因此在提取过程中要注意控制温度。蔓荆子中的黄酮类化合物具有多种药理活性,有着良好的开发应用前景;该提取工艺具有稳定性好、黄酮得率高、操作简单、生产成本较低的优点,适用于工业生产,为开发蔓荆子总黄酮提供了较好的理论基础。

### References:

[1] Lei Z Q. *Chinese Materia Medica* (中药学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2000.

[2] Xu N. Study on pharmacological active constituents of relaxing blood vessels from *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. [J]. *Foreign Med Sci; Tradit Chin Med* (国外医学: 中医中药分册), 1999, 21(5): 41.

[3] Zhang Z Z, Wei Y. Analysis of vitexin and p-hydroxybenzoic acid in *Fructus viticis* by adsorption thin-layer chromatography [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1994, 6(3): 59-63.

[4] Wu Y Z, Zhu L H, et al. Comparison of the content of chemical constituents in *Fructus Viticis* from different areas [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2000, 23(10): 616-619.

[2] Ye J Q. *Bencao Gouchen* (本草钩沉) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technique Publishing House, 1988.

[3] Ma G G. Galanthamin for the treatment of Alzhdimer's Disease. progress [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 1998, 22(2): 153-156.

[4] Cong P Z. *The Application of Mass Spectrum to Natural Inorganic Chemistry* (质谱在天然无机化学中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1987.

[5] Wang X Y, Huang M R, Han Z M. Microwave assisted extraction of galanthamine [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2005, 21(6): 374-375.