

香青兰有效成分提取工艺考察及不同产地香青兰中有效成分量的比较

于宁¹, 何承辉¹, 黄伟², 邢建国^{1*}, 古丽斯坦·阿吾提¹

1. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 药物制剂研究室, 北京 100050

摘要: **目的** 研究香青兰有效成分的提取工艺并比较不同产地香青兰中有效成分的量。**方法** 采用 HPLC 法测定香青兰中木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (I)、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (II)、迷迭香酸、香叶木素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (III)、田蓟苷和刺槐素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (IV) 的量。在单因素试验的基础上, 采用正交试验考察提取溶媒、乙醇用量和提取时间对提取工艺的影响, 确定最佳提取工艺。根据最佳提取工艺, 比较不同产地香青兰中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的量。**结果** 最佳提取条件为加 30 倍量的 40% 乙醇水溶液, 提取 1 次, 5 h。新疆吉木萨尔产的香青兰中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的量较高。**结论** 该提取工艺合理、稳定、可行; 不同产地的香青兰药材中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的量存在一定的差异。

关键词: 香青兰; 木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷; 芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷; 迷迭香酸; 香叶木素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷; 田蓟苷; 刺槐素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)06-0846-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.06.011

Extraction technology for active constituents in *Dracocephali Moldavici Herba* and comparison on contents of *Dracocephali Moldavici Herba* from various habitats

YU Ning¹, HE Cheng-hui¹, HUANG Wei², XING Jian-guo¹, Gu-Li-Si-Tan·AWuTi¹

1. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China

2. Department of Pharmaceutics, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To study the extraction technology for the active constituents in *Dracocephali Moldavici Herba* (the aerial parts of *Dracocephalum moldevica*) and to compare their contents *Dracocephali Moldavici Herba* from various habitats. **Methods** The contents of luteolin-7-*O*-glucuronide (I), apigenin-7-*O*-glucuronide (II), rosmarinic acid, diosmetin-7-*O*-glucuronide (III), tilianin, and acacetin-7-*O*-glucuronide (IV) in *Dracocephali Moldavici Herba* were measured using HPLC method. Based on single-factor test, and the influence of the extracting menstrua, menstruum dosage, and extracting time were investigated using orthogonal design method. Based on the optimal technology, the contents of I, II, rosmarinic acid, III, tilianin, and IV in *Dracocephali Moldavici Herba* from various habitats were compared. **Results** The optimal conditions for the extracting for one time, each time for 5 h with 50 times of amount of 40% ethanol. *D. moldevica* produced in Jimusar, Xinjiang had the higher contents of I, II, rosmarinic acid, III, tilianin, and acacetin-7-*O*-glucuronide. **Conclusion** This extraction technology is reasonable, stable, and feasible. The contents of I, II, rosmarinic acid, III, tilianin, and IV in *Dracocephali Moldavici Herba* from different habitats have some differences. The multi-index contents of I, apigenin-7-*O*-glucuronide, rosmarinic acid, III, tilianin, and IV could reflect the quality of *Dracocephali Moldavici Herba* more comprehensively.

Key words: *Dracocephali Moldavici Herba*; luteolin-7-*O*-glucuronide; apigenin-7-*O*-glucuronide; rosmarinic acid; diosmetin-7-*O*-glucuronide; tilianin; acacetin-7-*O*-glucuronide; orthogonal test

收稿日期: 2014-12-10

基金项目: 国家科技重大专项“重大新药创制”课题 (2012ZX09102201-009)

作者简介: 于宁 (1982—), 女, 山东人, 助理研究员, 硕士, 主要从事中药新药研究。E-mail: ynjy798@163.com

*通信作者 邢建国, 男, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中药新药研究。E-mail: xjguodd@163.com

香青兰 *Dracocephali Moldavici Herba* 为唇形科 (Labiatae) 青兰属 *Dracocephalum* L. 植物香青兰 *Dracocephalum moldavica* L. 的干燥地上部分^[1], 性质二级干热, 有很强的香味, 具有补益心脑、活血化瘀、通路开窍、止痛解毒、利尿止咳之功能, 在维吾尔医学和民间其用于治疗冠心病、血液质旺盛 (高血压)、寒性神经性头疼、寒性感冒、气管炎等疾病。香青兰生长于海拔 220~1 600 m 的干燥山地、山谷、河滩多石处, 我国资源十分丰富^[2], 分布于新疆、吉林、辽宁、甘肃、青海及黑龙江。其主要含有黄酮类、三萜类、苯丙素类、甾体类、环烯醚萜类和多糖类成分, 其中, 黄酮类和苯丙素类成分是其发挥药理作用的主要活性成分^[3-4]。黄酮类成分木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (I)、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (II)、香叶木素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (III)、刺槐素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (IV) 和田蓟苷既是香青兰中量较高的成分, 也是扩张冠脉、降低冠脉血管阻力的主要活性成分^[5-6]; 苯丙素类化合物迷迭香酸在香青兰中量较高^[7-8], 且文献报道其具有抗血栓、抗血小板凝集、抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒和免疫调节的作用^[9]。目前, 关于香青兰多指标的定量测定文献报道比较少, 所以有必要建立一种多指标的测定方法^[10-11]。为了提高香青兰药材的利用率和判断药材的优劣, 本实验以多个有效成分 (I、II、III、IV、田蓟苷和迷迭香酸) 的提取率为指标, 考察香青兰的提取工艺, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验对香青兰有效成分的提取工艺进行探讨研究, 从而确定最佳提取工艺, 根据最佳提取工艺, 对 4 个不同产地的香青兰中 I、II、III、IV、田蓟苷和迷迭香酸的量进行比较分析, 为香青兰原料的选择和质量检测提供参考。

1 仪器与试剂

日本岛津 SPD-10AVP 型高效液相色谱仪, 日本岛津制造所; AB135-S 梅特勒-托利多电子天平, 梅特勒-托利多国际股份有限公司; WP-UP-IV-10 型 Water Purifier 实验室专用超纯水机, 四川沃特尔科技发展有限公司; JM-B2003 电子天平, 余姚市纪铭称重校验设备有限公司; KQ-100 DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

香青兰采自新疆吉木萨尔、于田、墨玉、阜康 4 个产地, 经新疆药物研究所何江副研究员鉴定为唇形科植物香青兰 *Dracocephalum moldavica* L. 的干燥地上部分; 对照品 I 和 II 购自上海一林生物科

技有限公司 (质量分数 >98%); 对照品田蓟苷、III 和 IV 均为实验室自制, 其结构通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与文献报道的数据比对而确定, 经 HPLC 归一法测定质量分数均在 98% 以上; 对照品迷迭香酸 (批号 111871-201001) 购自中国食品药品检定研究院 (质量分数以 98.8% 计); 乙腈 (色谱纯); 甲酸 (分析纯); 双蒸水; 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分的定量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Shim-pack ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5% 甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~30 min, 18% 乙腈; 30~60 min, 18%~30% 乙腈; 60~75 min, 30% 乙腈; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 330 nm; 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 10 μL 。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 对照品适量, 加 70% 乙醇水溶液制成含 I 149.6 $\mu\text{g/mL}$ 、II 116.5 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 207.36 $\mu\text{g/mL}$ 、III 139.2 $\mu\text{g/mL}$ 、田蓟苷 395 $\mu\text{g/mL}$ 、IV 234 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密移取提取液, 滤过, 取续滤液作为各提取液的供试品溶液。

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.1.2”项下的混合对照品储备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 用 70% 乙醇溶液定容至刻度, 摇匀, 即得系列对照品溶液。分别吸取 10 μL , 按“2.1.1”项下色谱条件进行分析, 记录色谱图, 以对照品的质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 并进行回归计算, 得 6 种指标成分的回归方程、相关系数 (r) 和线性范围分别为 I: $Y=14\ 784 X+4\ 201.2$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 7.48~59.84 $\mu\text{g/mL}$; II: $Y=14\ 709 X-156.34$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 5.825~46.6 $\mu\text{g/mL}$; 迷迭香酸: $Y=36\ 953 X+651.62$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 10.368~82.944 $\mu\text{g/mL}$; III: $Y=12\ 574 X-2\ 545.9$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 6.96~55.68 $\mu\text{g/mL}$; 田蓟苷: $Y=30\ 882 X-6\ 629.5$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 19.75~158 $\mu\text{g/mL}$; IV: $Y=5\ 513.2 X+2937$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 11.70~93.60 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.1.5 精密度试验 取含 I 29.92 $\mu\text{g/mL}$ 、II 23.3 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 41.472 $\mu\text{g/mL}$ 、III 27.84 $\mu\text{g/mL}$ 、田蓟苷 79 $\mu\text{g/mL}$ 和 IV 46.8 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液, 重复进样 6 次, 结果 I、II、迷迭香酸、III、田

蒎昔和 IV 峰面积的 RSD 分别为 1.22%、0.92%、0.68%、0.70%、1.07% 和 0.85%。

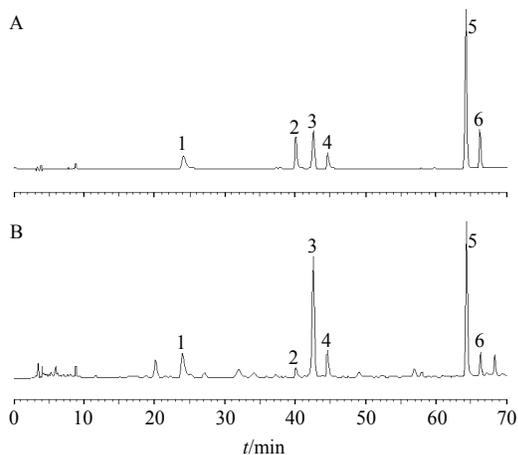
2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液，室温下放置，分别于 0、2、4、6、8、12 h 分别进样，每次进样 10 μ L，按“2.1.1”项下色谱条件测定峰面积，结果 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 峰面积的 RSD 分别为 0.81%、0.65%、0.79%、0.89%、1.20% 和 0.91%。

2.1.7 重复性试验 取同一批香青兰药材共 6 份，每份 1.0 g，依法制备样品，测定各指标成分的峰面积，并计算 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 质量分数的 RSD 分别为 1.21%、1.05%、0.99%、1.09%、1.63% 和 1.38%。

2.1.8 加样回收率试验 精密量取香青兰药材共 6 份，每份 0.5 g，分别置 100 mL 具塞锥形瓶中，分别精密加入“2.1.2”混合对照品溶液 7.0 mL，依法制备样品，测定各供试品溶液中 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 的平均回收率分别为 99.95%、98.10%、100.47%、101.11%、98.66%、99.01%，RSD 分别为 1.38%、1.67%、1.62%、1.18%、0.99%、1.89%。

2.1.9 提取液中指标成分的测定 分别吸取含 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 的混合对照品和供试品溶液各 10 μ L，照“2.1.1”项下色谱条件进行测定，色谱图见图 1。

2.1.10 药材中指标成分的测定 根据本课题组前



1-木犀草素-7-O-葡萄糖醛酸苷 2-洋芹素-7-O-葡萄糖醛酸苷 3-迷迭香酸 4-香叶木素-7-O-葡萄糖醛酸苷 5-田蒎昔 6-刺槐素-7-O-葡萄糖醛酸苷

1-luteolin-7-O-glucuronide 2-apigenin-7-O-glucuronide 3-rosmarinic acid 4-diosmetin-7-O-glucuronide 5-tilianin 6-acacetin-7-O-glucuronide

图 1 混合对照品 (A) 和供试品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference (A) and extract solution (B)

期研究“香青兰滴丸的药剂学研究”中香青兰药材的测定方法^[12]，称取新疆吉木萨尔县产香青兰药材 1.0 g，精密称定，置 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 40%乙醇水溶液 60 mL，称定质量，加热回流提取 6 h，放冷，再称定质量，用 40%乙醇水溶液补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。照“2.1.1”项下色谱条件进行测定，得本批药材中 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 的质量分数分别为 0.41%、0.08%、0.23%、0.21%、0.47%、0.36%。

2.1.11 浸出物量的测定 精密移取提取液 50 mL，置已干燥至恒定质量的蒸发皿中，在水浴上蒸干，于 105 $^{\circ}$ C 干燥 3 h，置干燥器中冷却 1 h，迅速精密称定质量，计算浸出物的量。

2.2 乙醇回流提取工艺

分别称取新疆吉木萨尔县产香青兰，加入一定量一定体积分数的乙醇水溶液，进行加热回流提取，得提取液，分别测定提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 的质量浓度，计算提取率。

提取率 = 提取液中指标成分的质量浓度 \times 提取液体积 / 药材中指标成分的总质量

2.3 单因素考察试验

2.3.1 提取溶剂考察 分别称取新疆吉木萨尔县产香青兰 8 份，每份 20 g，分别加 40 倍量水及 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%乙醇水溶液，加热回流提取 2 次，提取时间为 3 h，每次 1.5 h，滤过，合并 2 次滤液，用相应的溶剂定容至 1 000 mL，照“2.1.1”项下色谱条件，测定提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蒎昔和 IV 的质量浓度，分别计算其提取率。结果见表 1。由以上实验结果可知，40%乙醇提取液中 II、迷迭香酸、田蒎昔和 IV 提取率最高，I 和 III 在 40%乙醇提取液中提取率较高，故采用 40%乙醇水溶液进行后续单因素考察。同时，20%乙醇水溶液对 I 和 III 的提取率最高，因此，选择 20%、40%、60%乙醇进行正交试验考察。

2.3.2 提取次数的选择 分别称取新疆吉木萨尔县产香青兰 4 份，每份 20 g，设定提取次数为 1、2、3、4 次，共加 40 倍量的 40%乙醇水溶液，加热回流提取 3 h，提取操作如下：(1 次)香青兰药材 20 g，加入 40 倍量的 40%乙醇水溶液，加热回流提取 1 次，3 h；滤过，滤液置 1 000 mL 量瓶中，用 40%乙醇水溶液定容至刻度，药渣弃去；(2 次)香青兰药材 20 g，先加入 20 倍量的 40%乙醇水溶液，加

表 1 不同提取溶媒对指标成分提取率的影响

Table 1 Effect of different extracting solvents on extraction rates of index components

溶媒	提取率/%					
	I	II	迷迭香酸	III	田蓟苷	IV
水	45.90	39.76	47.83	48.82	37.71	42.47
10%乙醇	55.37	43.37	48.70	47.87	38.35	43.01
20%乙醇	79.30	49.67	53.48	67.40	48.25	55.75
30%乙醇	73.62	50.60	55.57	64.24	47.67	44.93
40%乙醇	73.64	71.45	77.96	63.51	52.91	53.78
50%乙醇	76.43	70.94	73.24	61.04	50.12	50.05
60%乙醇	75.00	68.45	74.61	57.82	48.31	48.71
70%乙醇	55.38	57.69	73.77	55.04	47.47	47.95

热回流提取 1 次，提取时间为 1.5 h，滤过，药渣照上法再提取 1 次，滤过，合并以上 2 次的提取液，置 1 000 mL 量瓶中，用 40%乙醇水溶液定容至刻度，药渣弃去；(3 次)香青兰药材 20 g，先加入 15 倍量的 40%乙醇水溶液，提取 1 次，1.0 h，滤过，药渣照上法再提取 2 次(第 3 次加 10 倍量的 40%乙醇水溶液，其他操作相同)，滤过，合并以上 3 次的提取液置 1 000 mL 量瓶中，用 40%乙醇水溶液定容至刻度，药渣弃去；(4 次)香青兰药材 20 g，先加入 10 倍量 40%乙醇水溶液，提取 1 次，提取时间为 1.0 h，滤过，药渣照上法再提取 3 次(第 3、4 次提取时间为 0.5 h，其他操作相同)，滤过，合并以上 4 次的提取液置 1 000 mL 量瓶中，用 40%乙醇水溶液定容至刻度，药渣弃去。

照“2.1.1”项色谱条件，测定以上 4 份提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的质量浓度，分别计算其提取率，结果见表 2。由以上实验结果可知，在共加入 40 倍量的 40%乙醇水溶液，加热回流提取 3 h 的前提下，考察提取次数(1、2、3、4 次)对 6 指标成分提取率的影响，本实验重复 3

表 2 不同提取次数对指标成分提取率的影响 (n = 3)

Table 2 Effect of different extracting times on extraction rates of index components (n = 3)

次数/次	提取率/%					
	I	II	迷迭香酸	III	田蓟苷	IV
1	61.89	72.31	89.13	92.42	78.60	66.30
2	55.34	71.13	85.22	69.19	63.98	53.97
3	47.09	56.60	84.78	68.25	53.18	56.44
4	40.78	50.62	81.74	63.98	51.69	50.96

次，结果均为 1 次提取率较高，因此，确定提取 1 次，进行后续实验。

2.3.3 溶媒倍量的考察 分别称取新疆吉木萨尔县产香青兰 9 份，每份 20 g，分别加入 20、25、30、35、40、45、50、55、60 倍量 40%乙醇水溶液，加热回流提取 1 次，提取时间为 3 h，滤液滤过置 1 000 mL 量瓶中，用 40%乙醇水溶液定容至刻度，照“2.1.1”项下色谱条件测定提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的质量浓度，分别计算其提取率。结果见表 3。由以上实验结果可知，当 40%乙醇水溶液用量为 40 倍时，各指标成分的提取率均能达到 60%以上，且 40 倍时各指标成分的提取率占 60 倍量提取率的 90%以上，因此，采用 40 倍量 40%乙醇溶液，进行后续单因素考察，且 50 倍时各指标成分的提取率占 60 倍量提取率的 95%以上，因此，选择 30、40、50 倍进行正交试验。

表 3 不同溶媒倍量对指标成分提取率的影响

Table 3 Effect of different ethanol volumes on extraction rates of index components

倍量/倍	提取率/%					
	I	II	迷迭香酸	III	田蓟苷	IV
20	37.62	56.63	72.61	58.77	53.18	54.79
25	40.05	57.83	77.83	63.98	63.35	53.70
30	56.31	66.27	83.70	69.67	68.22	58.90
35	57.04	68.67	83.48	70.62	68.86	59.45
40	63.59	71.08	84.78	84.83	70.13	60.55
45	64.53	70.84	88.26	83.89	71.82	61.92
50	68.45	75.49	89.13	85.31	73.31	65.48
55	67.72	75.90	89.57	84.83	73.73	65.34
60	68.69	76.51	90.00	85.31	75.42	67.95

2.3.4 提取时间的考察 分别称取新疆吉木萨尔县产香青兰 5 份，每份 20 g，加入 40 倍量 40%乙醇水溶液，加热回流提取 1 次，每次提取时间分别为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 h，滤液滤过置 1 000 mL 量瓶中，用 40%乙醇水溶液定容至刻度，照“2.1.1”项下色谱条件测定提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的质量浓度，分别计算其提取率。结果见表 4。由结果可知，6 指标成分的提取率随提取时间的增长而增大，II、迷迭香酸、III、田蓟苷在提取 5.0 h 与 6.0 h 的提取率接近，且 6 指标成分在提取 4.0 h 的提取率均占 6.0 h 提取率的 83%以上，因此，选择 4.0、5.0、6.0 h 进行正交试验。

2.5 验证试验

为验证上述结果的准确性, 保证提取工艺的合理可行, 按上述已确定最佳工艺条件, 分别取 3 个批次新疆吉木萨尔县产香青兰药材各 20 g, 对优选的最佳工艺进行验证, 照“2.1.1”项下色谱条件测定提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的质量浓度, 分别计算其提取率。结果见表 7。结果表明, 该工艺稳定、合理、可靠, 可为工业生产提供理论依据。

表 6 方差分析

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	329.170	2	69.270	$P < 0.05$
B	65.890	2	13.866	
C	105.119	2	22.121	$P < 0.05$
D(误差)	4.752	2		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$

表 7 提取工艺验证试验

批次	提取率/%						浸出物/%
	I	II	迷迭香酸	III	田蓟苷	IV	
1	90.93	87.61	83.99	84.50	89.86	75.83	21.56
2	91.11	86.98	84.05	86.05	90.37	74.91	20.77
3	91.66	87.95	83.69	85.16	89.95	75.09	21.36

2.6 新疆不同产地香青兰有效成分的测定

分别称取吉木萨尔、于田、墨玉、阜康产的香青兰药材各 20 g, 按照“2.4”项确定的提取工艺进行提取, 照“2.1.1”项下色谱条件测定提取液中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的量。结果见表 8。由表 8 的测定结果可以看出, 不同产地香青兰药材中 I、II、迷迭香酸、III、田蓟苷和 IV 的量差异较大。吉木萨尔产的香青兰药材中 6 种指标成分的量最高, 墨玉产的香青兰药材中 I、II、田蓟苷和 IV 的量最低, 于田产的香青兰药材中迷迭香酸、III 的量最低。同时, 吉木萨尔产香青兰药材各指标成分提取率均到达 85% 以上, 这进一步验证了优选的最佳提取工艺的稳定性 and 可行性。

3 讨论

首先采用单因素试验考察乙醇体积分数、加醇倍量、提取时间和提取次数 4 个因素对 6 个指标成分提取率的影响, 结果, 在总的提取时间为 3 h 的前提下, 考察提取次数对 6 指标成分提取率的影响

表 8 不同产地香青兰中指标成分的测定结果

Table 8 Determination of index components in aerial parts of *D. moldavica* from different habitats

产地	质量分数/%					
	I	II	迷迭香酸	III	田蓟苷	IV
吉木萨尔	0.38	0.07	0.22	0.18	0.44	0.32
于田	0.27	0.02	0.14	0.08	0.25	0.16
墨玉	0.15	0.02	0.15	0.09	0.21	0.14
阜康	0.31	0.06	0.19	0.16	0.40	0.29

时, 6 个指标成分提取率, 随着提取次数的增加而降低, 重复 3 次试验的结果均是提取 1 次时, 6 个指标成分提取率最高, 因此, 固定提取次数为 1 次。再采用正交试验对其他影响提取工艺的因素进行优化, 结果乙醇体积分数有显著性影响, 提取时间也有一定的影响, 从工业生产和节能降耗等方面考虑, 以 A₂B₁C₃ 组合为佳, 即 40% 乙醇水溶液, 加 30 倍量, 提取 1 次, 提取 5 h。

据现有文献表明^[10-13], 香青兰提取都是以香青兰中单个成分或 2 个成分作为考察指标, 本实验以香青兰药材中多个活性成分和浸出物作为指标, 筛选提取工艺, 有利于兼顾各指标的协同效应, 符合中药多成分多靶点起效的特点, 较单一指标筛选更加科学、合理, 而且操作方法简便, 结果容易统计, 且优化后的提取工艺结果稳定可靠, 可为进一步开发利用提供重要依据。

根据文献报道^[10-14]比较了甲醇-磷酸水溶液、乙腈-甲酸水溶液流动相系统的洗脱情况, 发现以甲醇-磷酸水溶液作为流动相时, 田蓟苷和 IV 都不能实现基线分离, 以乙腈-甲酸水溶液作为流动相, 各指标成分的分离较好, 故选择乙腈-甲酸水溶液作为流动相, 为了使 6 个指标成分在较短的时间内出峰, 选择乙腈-甲酸水溶液梯度洗脱。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册 [S]. 1999.
- [2] 李杰. 民族药用植物香青兰 [J]. 中国民族医药杂志, 2010, 16(8): 63-69.
- [3] 杨丽娜, 邢建国, 何承辉. 维吾尔香青兰的化学成分与药理作用评价 [J]. 世界临床药物, 2013, 34(4): 226-230.
- [4] 冯长根, 李琼. 香青兰化学成分与药理活性研究综述 [J]. 中成药, 2003, 25(2): 154-156.
- [5] 马思萌, 刘睿, 任晓亮, 等. HPLC-DAD 法测定苦碟子中木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷、木犀草素 7-O-β-D-

- 葡萄糖醛酸苷和芹菜素 7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(4): 377-380.
- [6] 邢建国, 曹文疆, 王新春, 等. 田蓟苷对 TNF- α 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(4): 17-20.
- [7] Dastmalchi K, Damien D, Laakso I, *et al.* Chemical composition and antioxidative activity of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2007, 40(9): 1655-1663.
- [8] Povilaityte V, Venskutonis P R, Cuvelier M E. Antioxidant constituents in moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts [J]. *Food Technol Qual Eval*, 2001(2003): 195-202.
- [9] 张玉杰, 徐文清, 沈秀, 等. 迷迭香酸的提取分离及药理学新发现 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(4): 434-437.
- [10] 王亚俊, 王李梅, 杨爽, 等. HPLC 法测定不同采收期香青兰中田蓟苷和霍香苷 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 91-93.
- [11] 袁勇, 邢建国, 张永军, 等. 高效液相色谱法测定香青兰提取物中田蓟苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 68-69.
- [12] 魏改芹. 香青兰滴丸的药剂学研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2008.
- [13] 买买提·努尔艾合提, 吐尔洪·艾买尔, 罗光明. 高效液相色谱法测定维吾尔药材香青兰中田蓟苷和洋芹素的含量 [J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(11): 61-62.
- [14] 王小平, 刘峰, 杨东华, 等. HPLC-MS 法测定大鼠注射丹红注射液后血浆中 3 种酚酸类成分 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 275-278.