

# 正交试验优选桑寄生中槲皮苷的提取工艺

苏本伟<sup>1,3</sup>, 张协君<sup>1</sup>, 朱开昕<sup>2</sup>, 赵明惠<sup>2</sup>, 裴河欢<sup>1</sup>, 李静<sup>1</sup>, 李永华<sup>3\*</sup>

(1. 钦州市中医药研究所, 广西 钦州 535000; 2. 钦州市中医院, 广西 钦州 535000;  
3. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的: 优选桑寄生中槲皮苷的提取工艺。方法: 以槲皮苷提取率为指标, HPLC 测定槲皮苷含量, 选取甲醇体积分数、甲醇量、超声时间、浸泡时间为考察因素, 通过单因素试验和正交试验优选桑寄生中槲皮苷的提取工艺。结果: 各因素对槲皮苷提取率的影响顺序为甲醇体积分数 > 甲醇用量 > 超声时间 > 浸泡时间。优选的提取工艺条件为取桑寄生药材粉末加 50 倍量 75% 甲醇浸泡 1 h 后超声处理 45 min, 槲皮苷提取率 8.64 mg·g<sup>-1</sup>。结论: 该提取方法操作简单、方便, 为桑寄生槲皮苷的进一步研究提供试验依据。

**[关键词]** 桑寄生, 槲皮苷, 正交试验, 提取工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0008-03

## Optimization of Extraction Technology of Quercitrin from *Taxillus chinensis*

SU Ben-wei<sup>1,3</sup>, ZHANG Xie-jun<sup>1</sup>, ZHU Kai-xin<sup>2</sup>, ZHAO Ming-hui<sup>2</sup>, PEI He-huan<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, LI Yong-hua<sup>3\*</sup>

(1. Qinzhou Institute of Traditional Chinese Medicine, Qinzhou 535000, China;

2. Qinzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qinzhou 535000, China;

3. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of quercitrin in *Taxillus chinensis*. **Method:** With yield of quercitrin as index, which was determined by HPLC, the concentration and amount of methanol, ultrasonic time, soaking time were chosen as factors, extraction technology of quercitrin from *T. chinensis* was optimized by single factor test and orthogonal test. **Result:** The order of four factors affecting extraction yield was volume fraction of methanol > amount of methanol > ultrasonic time > soaking time. Optimized extraction conditions was as following: took powder of *T. chinensis*, ultrasonic extracted 45 min after soaked 1 h with 50 times the amount of 75% methanol, extraction yield of quercitrin 8.64 mg·g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** This optimized technology was simple and convenient, it could provide experimental basis for further research of quercitrin from *T. chinensis*.

**[Key words]** *Taxillus chinensis*; quercitrin; orthogonal test; extraction technology

桑寄生是一种半寄生性植物药材, 具有祛风湿、补肝肾、强筋骨、安胎元等功效<sup>[1]</sup>。试验研究多以槲皮素定性检作为桑寄生药材质量控制的重要指标, 前期研究表明桑寄生中游离槲皮素含量较少, 主

要以槲皮苷等形式存在, 对桑寄生药材槲皮苷与槲皮素的含量测定已有报道<sup>[2-3]</sup>, 但对桑寄生药材槲皮苷提取工艺的研究尚未见报道。本文以槲皮苷含量为指标, 采用单因素试验和正交试验优选桑寄生中槲皮苷的提取工艺<sup>[4-6]</sup>。

### 1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪 (SPD-20A 型紫外检测器, 日本岛津公司), Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), GH-252 型分析天平 (日本 AND 公司), 槲皮苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111538-200403), 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。桑寄生药材采自钦州市

**[收稿日期]** 20120903(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目 (81173537); 广西科技攻关项目 (桂科攻 11107009-1-12)

**[第一作者]** 苏本伟, 在读研究生, 助理工程师, 从事中药质量控制, 中药制剂研发, Tel: 0777-2878443, E-mail: tosubenwei@163.com

**[通讯作者]** \* 李永华, 博士, 研究员, 从事中药质量标准研究, Tel: 0771-3137535, E-mail: liyonghua185@126.com

中医药研究所桑寄生药材种植基地桑树上的寄生,经中国科学院华南植物研究所丘华兴教授鉴定为广寄生 *Taxillus chinensis* (DC.) Danser,将采集的样品洗净阴干,粉碎过 40 目筛,备用。

## 2 方法与结果

### 2.1 槲皮苷含量测定

**2.1.1** Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱,流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(52:48),检测波长 254 nm,进样量 10 μL,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 25 ℃。

**2.1.2** 对照品溶液制备 精密称取槲皮苷对照品 3.50 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

### 2.2 单因素试验

**2.2.1** 超声时间考察 精密称取桑寄生药材粉末 5 份,每份 0.50 g,各加入甲醇溶液 25 mL,分别超声提取 20,30,45,60,90 min。结果槲皮苷提取率分别为 3.28,4.18,4.60,4.63,4.65 mg·g<sup>-1</sup>。应选择超声 45 min。

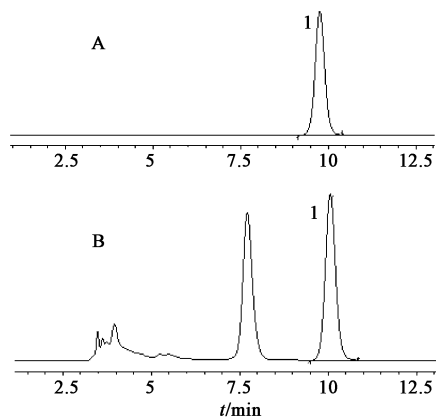
**2.2.2** 甲醇用量考察 固定超声提取时间 45 min,精密称取桑寄生药材粉末 5 份,每份 0.50 g,分别加甲醇 15,20,25,30,40 mL 进行提取,结果槲皮苷提取率分别为 4.30,4.22,4.60,4.38,4.28 mg·g<sup>-1</sup>。故提取溶剂用量为 25 mL。

**2.2.3** 浸泡时间考察 固定超声提取时间 45 min,精密称取桑寄生药材粉末 5 份,每份 0.50 g,加入甲醇 25 mL,分别浸泡 0,0.5,1.0,2.0 h,结果槲皮苷提取率分别为 4.60,4.84,4.90,4.82 mg·g<sup>-1</sup>。故浸泡时间选用 1 h 为宜。

**2.2.4** 甲醇体积分数考察 固定超声提取时间 45 min,精密称取桑寄生药材粉末 5 份,每份 0.50 g,分别加体积分数为 30%,40%,50%,75%,100% 的甲醇溶液 25 mL,浸泡 1 h 后,进行提取。结果槲皮苷提取率分别为 4.21,6.18,7.83,8.32,4.83 mg·g<sup>-1</sup>,故采用 75% 甲醇溶液。

**2.3** 正交试验设计 在单因素试验基础上,选择甲醇体积分数、甲醇用量、超声时间、浸泡时间为考察因素,精密称取桑寄生药材粉末 0.50 g,加 75% 甲醇进行超声提取,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验,因素水平见表 1。以槲皮苷提取率为指标,每个试验号平行制备 3 份,每份进样 3 次,色谱图见图 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

由表 2 可知,各因素对槲皮苷提取率的影响顺序为 A>B>C>D,即甲醇体积分数>甲醇用量>超声时间>浸泡时间。以极值最小的 D 因素为误差



A. 对照品;B. 供试品;1. 槲皮苷

图 1 桑寄生 HPLC

表 1 桑寄生中槲皮苷的提取工艺正交试验因素水平

水平	A 甲醇体积 分数/%	B 甲醇用量 /mL	C 超声时间 /min	D 浸泡时间 /min
1	50	20	30	0.5
2	75	25	45	1.0
3	100	30	60	1.5

表 2 桑寄生中槲皮苷的提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	槲皮苷 提取率/%
1	1	1	1	1	7.18
2	1	2	2	2	7.78
3	1	3	3	3	7.02
4	2	1	2	3	7.71
5	2	2	3	1	8.24
6	2	3	1	2	8.43
7	3	1	3	2	2.82
8	3	2	1	3	3.35
9	3	3	2	1	3.60
K <sub>1</sub>	21.98	17.72	18.97	19.02	
K <sub>2</sub>	24.38	19.37	19.09	19.04	
K <sub>3</sub>	9.78	19.05	18.08	18.08	
R	14.60	1.65	1.02	0.96	

表 3 提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	40.864	2	20.432	205.036	< 0.05
B	0.512	2	0.256	2.569	> 0.05
C	0.204	2	0.102	1.025	> 0.05
D(误差)	0.199	2	0.100	1.000	

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

# 益髓通经方中马钱子生物碱纯化工艺优选

金文淑<sup>1</sup>, 张炜煜<sup>2\*</sup>

(1. 通化万通药业股份有限公司, 吉林 通化 134001; 2. 长春中医药大学, 长春 130117)

**[摘要]** 目的: 优选大孔吸附树脂纯化益髓通经方中马钱子生物碱的工艺条件。方法: 以马钱子碱和土的宁的含量为指标, HPLC 进行含量测定, 通过静态吸附和解吸试验筛选大孔吸附树脂型号, 采用单因素试验考察大孔树脂吸附和洗脱条件, 确定益髓通经方中马钱子生物碱的纯化工艺。结果: 最佳纯化工艺为采用 X-5 型大孔吸附树脂, 上样液质量浓度  $0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 上样速度  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 上样量 4 BV, 吸附时间 2 h, 加 1 BV 水洗除杂, 用 6 BV 50% 乙醇以  $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度进行洗脱。结论: 采用大孔吸附树脂纯化马钱子提取物中生物碱是可行的, 优选的纯化工艺简单、经济。

**[关键词]** 马钱子; 生物碱; 纯化工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0010-04

## Optimization of Purification Process for Alkaloids from *Strychnos nux-vomica* in Yisui Tongjing Prescription

JIN Wen-shu<sup>1</sup>, ZHANG Wei-yu<sup>2\*</sup>

(1. Tonghua Wantong Pharmaceutical Co. Ltd, Tonghua 134001, China;

**[收稿日期]** 20120829(010)

**[基金项目]** 吉林省自然科学基金项目(201015111)

**[第一作者]** 金文淑, 高级工程师, 从事工艺研究及新产品研究, Tel: 18843583005, E-mail: jinwenshu@126.com

**[通讯作者]** \* 张炜煜, 硕士, 教授, 博士生导师, 从事新剂型新技术研究与开发, Tel: 0431-86172198, E-mail: weiyuzhang2003@126.com

项进行方差分析, 显示甲醇体积分数对提取效果有显著影响, 甲醇用量、超声时间对槲皮苷提取率影响无显著性差异。确定最佳工艺条件为  $A_2B_2C_2D_2$ , 即加 50 倍量 75% 甲醇浸泡 1 h 后超声处理 45 min。

**2.4 验证试验** 取桑寄生粉末 0.5 g, 按优选的提取工艺进行 3 次验证试验, 结果槲皮苷平均提取率  $8.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 0.44%, 说明该工艺稳定可行。

### 3 讨论

根据槲皮苷的化学性质, 分别以甲醇、乙醇、水作为提取溶剂, 提取液经 HPLC 测定。结果表明, 甲醇的提取效率高, 峰形好; 乙醇提取率较高, 但峰分离度不高; 水提取率最低, 且峰分离度较差, 故选用甲醇作为提取溶剂。

桑寄生在 2010 年版《中国药典》中以槲皮素为鉴别指标, 而桑寄生中有效成分主要以槲皮苷等黄酮苷形式存在<sup>[2]</sup>, 为了更全面地反应桑寄生的质量, 建议以槲皮苷作为定量指标。本实验为建立桑寄生药材的质量标准及人工种植提供了试验依据。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 280.
- [2] 张协君, 朱开昕, 赵明惠, 等. 不同寄主来源的桑寄生药材槲皮苷与槲皮素含量分析[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(7): 1604.
- [3] 朱开昕, 张协君, 赵明惠, 等. 桑树寄主的 4 种桑寄生科药用植物槲皮素含量测定[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2395.
- [4] 喻文进, 夏武云, 肖玥, 等. 正交试验法优选了哥王中西瑞香素的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 12.
- [5] 杨秀利, 曹艳萍. 苜蓿中槲皮苷提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 212.
- [6] 黄桦华, 黄月纯, 魏刚, 等. 正交试验法筛选侧柏叶中总黄酮的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 34.

[责任编辑 全燕]