

龙葵中澳洲茄边碱的提取工艺

张岩^{1,2,3}, 徐连明^{1,2,3}, 陈祥^{1,2,3}, 陈俊^{1,2,3}, 孟兆青^{1,2,3}, 萧伟^{1,2,3*}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001;

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001;

3. 江苏省企业院士工作站, 江苏 连云港 222001)

[摘要] **目的:**研究龙葵药材中澳洲茄边碱的最佳提取工艺。**方法:**以澳洲茄边碱提取率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验,考察乙醇体积分数、料液比、提取时间及提取次数对提取率的影响,优选出最佳的提取工艺。用高效液相法测定澳洲茄边碱的含量。**结果:**优选出的澳洲茄边碱最佳提取工艺为用 80% 乙醇 20 倍量回流提取 2 次、每次 4 h。**结论:**提取工艺合理可行,适用于龙葵中澳洲茄边碱的提取。

[关键词] 龙葵; 澳洲茄边碱; 提取工艺; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-05-03

Extraction Process of Solamargine from *Solanum nigrum*

ZHANG Yan^{1,2,3}, XU Lian-ming^{1,2,3}, CHEN Xiang^{1,2,3}, CHEN Jun^{1,2,3}, MENG Zao-qing^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3*}

(1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222000, China;

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China;

3. Enterprises Academician Workstations in Jiangsu Province, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the optimum extracting process of solamargine from *Solanum nigrum* **Method:** The optimum extraction process was investigated by $L_9(3^4)$ orthogonal design with the yield of solamargine as index, and four factors were chosen, including ethanol concentration, solid-liquid ratio, extraction times and extraction time. HPLC was used to determine the content of solamargine. **Result:** The optimum extraction conditions was to reflux the herbs for two times, four hours each time with 20 times amount of 80% ethanol. **Conclusion:** The selected technology is reasonable and feasible, and was suitable for extraction of solamargine.

[Key words] *Solanum nigrum*; solamargine; extraction process; orthogonal design

龙葵是茄科植物龙葵 *Solanum nigrum* L. 的干燥地上部分,为我国传统中药材,味苦、微甘,性寒,归肺、肝、胃经,能清热解毒,消肿散结,消炎利尿;主治疮疖肿痛,尿路感染,小便不利,肿瘤等^[1]。研究

表明,龙葵中的生物碱类成分具有很好的抗肿瘤活性,引起了医药工作者的关注^[2]。龙葵中所含有的主要生物碱是甾体类生物碱,主要有澳洲茄边碱(solamargine)和澳洲茄碱(solasonine)等,苷元同是澳洲茄胺(solasodine)^[3]。

对龙葵药材中总生物碱的提取,以及澳洲茄碱的提取工艺研究已有报道^[4-5]。本研究首次以龙葵中澳洲茄边碱为评价指标,采用正交试验法优选乙醇回流提取工艺条件,考察不同提取条件对澳洲茄边碱提取率的影响,为龙葵中有效活性成分提取工艺优化,为我国龙葵资源的进一步研究开发提供依据。

[收稿日期] 20110513(005)

[基金项目] 国家科技重大专项重大新药创制项目(2009ZX09103-389)

[第一作者] 张岩,硕士,从事中药新药开发工作, E-mail: 2716158@163.com

[通讯作者] * 萧伟,博士生导师,研究员高级工程师,从事中药新制剂的研究与开发研究, Tel:0518-85522009, E-mail: kanionxw2010@126.com

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(柱温箱、四元泵、VWD 检测器,美国 Agilent 公司),BC-R501 型旋转蒸发器(上海贝凯生物化工设备有限公司),AE-240 型电子分析天平[梅特勒托利多(上海)有限公司]。

澳洲茄边碱对照品(自制,批号 20090120,纯度 >98%),龙葵药材(购于江苏省医药公司,批号 090520,经江苏康缘药业股份有限公司研发总监丁岗高级工程师鉴定为茄科植物龙葵 *S. nigrum* 的干燥地上部分),乙腈为色谱纯(Tedia 公司),其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 澳洲茄边碱的测定^[6]

2.1.1 色谱条件 Kromasic100-5C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 60% 乙腈-2 mmol·L⁻¹ Na₂HPO₄ 溶液(70:30),流速 1 mL·min⁻¹,测定波长 203 nm,柱温 30 °C,理论板数按对照品峰计算不低于 5 000。

2.1.2 标准曲线的制备 称取澳洲茄边碱对照品 50.30 mg,甲醇溶解,并定容到 50 mL,摇匀,即得 1.006 g·L⁻¹ 的澳洲茄边碱对照品储备液。分别吸取 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 标准储备液至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取上述溶液各 10 μL 进样,测定,以对照品进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y = 318.05X + 2.55 (r = 0.9999)$,结果表明澳洲茄边碱在 0.5 ~ 10 μg 线性关系良好。

2.2 澳洲茄边碱的提取工艺

2.2.1 提取溶剂的选择 考虑澳洲茄边碱的性质和生产实际需要,选用 80% 乙醇、1% 盐酸、3% 醋酸提取。取龙葵药材粗粉各 100 g,共 3 份,其中醇提采用回流提取,8 倍量 80% 乙醇提取 2 次,每次 2 h; 1% 盐酸、3% 醋酸提取采用冷浸法,20 倍量酸液浸泡 24 h。考察 80% 乙醇、1% 盐酸、3% 醋酸对提取率的影响,试验结果表明提取率分别为 0.51, 0.39, 0.28 mg·g⁻¹,转移率分别为 72.9%, 55.7%, 54.3% (以龙葵药材中澳洲茄边碱含量 0.7 mg·g⁻¹ 计),因此选择乙醇回流的方法提取最佳。

2.2.2 供试品的制备 分别称取龙葵药材粗粉,每份 100 g,精密称定,按 L₉(3⁴) 正交表的条件制备提取液,将提取液浓缩到 500 mL,精确量取 10 mL 于蒸发皿上,水浴蒸干溶剂,残渣加甲醇溶解并转移至

10 mL 量瓶中,甲醇定容,0.45 μm 滤膜滤过,备用。

2.2.3 正交试验设计及结果^[7] 根据预试验结果,考虑到提取过程中可能的影响因素,并结合生产实际,选用 L₉(3⁴) 正交试验表,考察乙醇体积分数(A)、回流时间(B)、料液比(C)、回流次数(D)对其影响,并对澳洲茄边碱的提取率进行方差分析,见表 2, 3。

表 1 龙葵醇提工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数 / %	B 回流时间 / h	C 料液比 / 倍	D 回流次数 / 次
1	40	2	16	1
2	60	4	20	2
3	80	6	24	3

表 2 龙葵醇提工艺正交试验

No.	A	B	C	D	澳洲茄边碱提取率 / mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	0.353
2	1	2	2	2	0.585
3	1	3	3	3	0.397
4	2	1	2	3	0.497
5	2	2	3	1	0.401
6	2	3	1	2	0.416
7	3	1	3	2	0.502
8	3	2	1	3	0.557
9	3	3	2	1	0.553
K ₁	0.445	0.451	0.442	0.436	
K ₂	0.438	0.514	0.545	0.501	
K ₃	0.537	0.455	0.433	0.484	
R	0.099	0.063	0.112	0.065	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.018	2	2.57	>0.05
B	0.008	2	1.14	>0.05
C	0.023	2	3.29	>0.05
D 误差	0.007	2		

从表 2 中数据直观分析,不同因素的极差大小顺序为 C > B > A > D,即提取溶剂用量对澳洲茄边碱的提取率影响最大,乙醇体积分数、回流时间影响较小,回流次数影响最小。由表 3 方差分析结果可知,因素 A, B, C, D 均无显著性影响,综合以上因素,确定最佳提取工艺为 A₃B₂C₂D₂,即料液比 1:20、80% 乙醇回流提取 2 次、每次 4 h。

Doehlert 设计法优化紫珠中苯乙醇苷的提取工艺

巩珺, 麦锦富, 彭素萍, 苗瑞娟, 袁明杨, 廖琼峰*, 张蕾
(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 研究乙醇回流法提取枇杷叶紫珠中苯乙醇苷的优化工艺。方法: 以料液比、提取时间、乙醇体积分数为 3 个考察因素, 苯乙醇苷含量为指标, 运用响应面分析法中的 Doehlert 设计法进行试验设计, 并采用统计学和数学软件对试验数据进行分析, 拟合出苯乙醇苷类的最优提取工艺条件。结果: 优选的提取条件为以 12 倍量 90% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h。结论: 应用 Doehlert 设计的响应面优化法具有使用方便、预测性好的特点, 值得推广应用。

[关键词] 枇杷叶紫珠; 苯乙醇苷; 提取; Doehlert 设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0007-04

Optimization of Extraction Technology of Phenylethanoid Glycoside from *Callicarpa konchiana* by Doehlert Design

GONG Jun, MAI Jin-fu, PENG Su-ping, MIAO Rui-juan, YUAN Ming-yang, LIAO Qiong-feng*, ZHANG Lei
(School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the process of phenylethanoid glycoside from *Callicarpa konchiana* by

[收稿日期] 20110505(007)

[基金项目] 2010年广东省大学生创新实验项目(1057210002)

[第一作者] 巩珺, 本科, 制药工程专业, Tel:15920585257, E-mail:yingwuchong@126.com

[通讯作者] * 廖琼峰, 副教授, 从事中药药效物质基础与药代动力学研究, Tel:020-39358081, E-mail:liaoq2075@yahoo.com

2.2.4 验证试验 为进一步验证优选方法的可靠性, 取 3 份药材, 每份 1 000 g, 按优选得到的工艺条件进行验证试验, 测定 3 次提取澳洲茄边碱提取率分别为 0.612, 0.623, 0.627 mg·g⁻¹。说明该工艺稳定、可行。

3 讨论

从 80% 乙醇回流, 1% 盐酸、3% 醋酸冷浸提取的结果来看, 酸水冷浸提取澳洲茄边碱的转移率较低, 由于在酸水中加热条件下澳洲茄边碱易发生水解, 不宜采用酸水热浸或回流提取; 采用乙醇回流提取, 澳洲茄边碱的转移率较高, 且较为稳定, 后续处理简单易行, 因此选择该提取方法。试验筛选得到的工艺条件, 经验证重复性较好, 便于工业化生产。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 1977:154.

[2] 罗文娟, 王光辉, 周新兰, 等. 螺甾皂苷类化合物的

体外抗人肝癌细胞增殖作用[J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(3): 307.

[3] 季宇彬, 王胜惠, 高世勇, 等. 龙葵活性成分的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2004, 20(6): 637.

[4] 刘覃, 陈晓青, 蒋新宇, 等. 微波辅助提取龙葵中总生物碱的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(1): 65.

[5] 袁海建, 贾晓斌, 陈彦, 等. 正交试验优选龙葵的提取工艺[J]. 中成药, 2009, 31(1): 120.

[6] 李明慧, 丁岗, 孟兆青, 等. 龙葵药材中澳洲茄碱、澳洲茄边碱的含量测定[J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 360.

[7] 郭孝纯. 计算化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 315.

[责任编辑 全燕]