

复方鹿衔草总黄酮的提取工艺

柳景¹, 王昌利^{1*}, 崔锐²

(1. 陕西中医学院药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 西安市未央区兴隆园医院药械科, 西安 710018)

[摘要] 目的: 研究不同提取工艺对复方鹿衔草中总黄酮含量的影响, 优选制备复方鹿衔草的最佳提取工艺。方法: 分别用水和乙醇作为溶剂提取复方鹿衔草中的黄酮类化合物, 以总黄酮含量为指标, 通过正交试验确定了复方鹿衔草黄酮类化合物的最佳提取工艺条件。结果: 复方鹿衔草最佳提取工艺为加 20 倍量 60% 乙醇提取 1 h。结论: 此工艺有效成分提取率较高, 重现性好, 稳定可行。

[关键词] 复方鹿衔草; 正交实验; 总黄酮

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0029-03

Study on Extraction Process of Total Flavonoids from Compound Pyrola

LIU Jing¹, WANG Chang-li^{1*}, CUI Rui²

(1. Pharmaceuticals College, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xiangang 712046, China;
2. Drug and Equipment Section, Xinglong Park Hospital in Xi'an Weiyuan, Xi'an 710018, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect on total flavonoids' content of compound Pyrola with different extraction process and optimize the best extraction process. **Method:** Flavonoid compounds were extracted from compound Pyrola with different solvent, water and alcohol respectively. Orthogonal test was used to determine the best extraction process of compound Pyrola flavonoids with the content of total flavones as the marker. **Result:** The more effective way to extract total flavones was extraction with 20 times amount of 60% alcohol under reflux for 1 hour. **Conclusion:** This method obtains more effective components. It is stable and reliable.

[Key words] total flavones; orthogonal test; compound Pyrola

复方鹿衔草为王朝宏教授经验方, 处方由鹿衔草、刺五加、柿叶 3 味药组成, 主要用于治疗高血压、冠心病、心绞痛等心血管疾病。鹿衔草为鹿蹄草科鹿蹄草属植物, 该植物主要含有黄酮类、鞣质、多酚类、醌类及其他成分。其中, 黄酮类化合物为鹿衔草的主要组分, 包括槲皮素类、山奈酚类、鼠李素类等, 鹿衔草具有明显的扩张血管作用, 对于冠心病、高血

压、脉管炎有较好的疗效^[1-2]。柿叶是柿树科植物柿树 *Diospyros kaki* L. f. 的新鲜或干燥叶, 柿叶中主要含有黄酮类^[3]、三萜类、萜类, 柿叶中含有的黄酮类化合物有降低血脂、胆固醇, 抑制血栓形成和扩张冠状动脉等作用, 可以治疗高血压、动脉硬化等心脑血管疾病^[4]。刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及根茎, 现代药理证明刺五加中总黄酮是有效成分, 其黄酮成分主要为槲皮素、槲皮苷、金丝桃苷和芦丁等, 刺五加有益气健脾、补肾安神之功效, 现代临床应用于增强人体的抗疲劳及适应性; 治疗糖尿病、高血压和高血脂等症^[5]。黄酮类化合物多溶于水、甲醇、乙醇等溶剂中, 本研究分别采用水和乙醇 2 种溶剂提取复方鹿衔草中的黄酮化合物并进行比较, 确定了复方鹿衔草的最佳提取工艺。

[收稿日期] 20101214(010)

[基金项目] 陕西省中医管理局中医药科研课题(ZY32); 陕西省中药制药重点学科课题; 陕西省中药基础与新药研究重点实验室(09JS014)

[第一作者] 柳景, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂开发研究, Tel: 13759710203, E-mail: ljupper@163.com

[通讯作者] *王昌利, 教授, 研究方向: 中药制剂开发研究, Tel: 13709103433, E-mail: wcl3433@163.com

1 材料

UV1102 紫外-可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司),GB-204 分析天平。

槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100081-200406)。刺五加购于西安市万寿路药材公司,柿叶采自陕西中医学院,鹿衔草购于宝鸡市眉县槐牙镇。经陕西中医学院生药教研室王继涛老师鉴定。

1.2 方法

1.2.1 提取 分别称取鹿衔草、刺五加、柿叶粗粉约 15 g 置于烧瓶中,在一定温度下,按一定的料液比,加入溶剂回流提取,提取液加入相应的溶剂定容至 250 mL。

1.2.2 总黄酮含量的测定方法

1.2.2.1 槲皮素对照品溶液的制备 精密称取在 120 ℃ 干燥至恒重的槲皮素 20 mg,置于 100 mL 量瓶中,加 50% 乙醇溶解,加乙醇至刻度,摇匀,使成 0.2 g·L⁻¹ 的槲皮素对照品溶液,备用。

1.2.2.2 标准曲线的绘制^[5] 分别准确吸取槲皮素对照品溶液 0,1,2,3,4,5 mL 置于 10 mL 的量瓶中,分别加入 50% 乙醇补至 5 mL,精密加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL,摇匀放置 6 min,加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL,摇匀放置 6 min 后加入 1% 氢氧化钠溶液 4 mL,用 50% 乙醇溶液定容至刻度,摇匀,放置 15 min,用第 1 份溶液为空白,照紫外-可见分光光度法(中国药典附录 V A),在 510 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,槲皮素质量浓度为横坐标绘制标准曲线。计算的回归方程为 $Y = 0.897X - 0.067$ ($R^2 = 0.9998$)。结果表明,槲皮素质量浓度在 0.2 ~ 1.0 g·L⁻¹ 与吸光度呈良好的线性关系。

1.2.2.3 精密度试验 取同一槲皮素对照品按 1.2.2.2 方法处理,连续进样 5 次测吸光度,计算 RSD 3.55%,说明此方法的精密度较好。

1.2.2.4 稳定性试验 精密称取复方鹿衔草样品 15 g,按 1.2.1 法配制,按照 1.2.2.2 项下的方法操作,每隔 2 h 测定 1 次,共测定 5 次,计算 RSD 0.739%,说明此样品在 10 h 内基本稳定。

1.2.2.5 加样回收试验 取已知含量的供试品溶液,加入 0.2 g·L⁻¹ 的槲皮素对照品溶液,测定结果,计算回收率平均值为 98.48%,RSD 2.52%。

1.2.2.6 总黄酮含量的测定 从已定容的提取液中吸取 1 mL 定容于 25 mL 量瓶中,按照槲皮素对照

溶液的制备方法依次加入显色剂,在 510 nm 处检测吸光度,并根据吸光度计算总黄酮的含量。

2 结果与分析

2.1 复方鹿衔草水提取工艺 以温度、提取时间、溶剂用量为因素,各因素分别选择 3 个水平,因素水平见表 1。以总黄酮含量为指标,设计 L₉(3⁴) 正交表进行试验,结果如表 2,3 所示。

表 1 复方鹿衔草水提取工艺因素水平

水平	A 温度/℃	B 提取时间/h	C 溶剂用量/倍
1	80	1	10
2	90	2	20
3	100	3	30

表 2 复方鹿衔草水提取工艺正交试验结果与直观分析

No	A	B	C	D	总黄酮/%
1	1	1	1	1	10.66
2	1	2	2	2	8.31
3	1	3	3	3	7.28
4	2	1	2	3	8.9
5	2	2	3	1	5.11
6	2	3	1	2	4.21
7	3	1	3	2	9.78
8	3	2	1	3	4.91
9	3	3	2	1	5.92
K ₁	8.750	9.780	6.593	7.230	
K ₂	6.073	6.110	7.710	7.433	
K ₃	6.870	5.803	7.390	7.030	
R	2.677	3.977	1.117	0.403	

表 3 水提取总黄酮方差分析

因素	SS	f	F	P
A	11.334	2	46.451	<0.05
B	29.277	2	120.398	<0.01
C	1.984	2	8.131	
D(误差)	0.24	2		

注: $F_{(2,2)}0.05 = 19$, $F_{(2,2)}0.01 = 99$ 。

从方差分析结果看出,3 个影响因素中溶剂用量对总黄酮含量的影响最小,温度和提取时间的影响较显著,3 个因素的显著程度依次为提取时间 > 温度 > 溶剂用量;从直观分析结果的出复方鹿衔草水提取的最佳工艺为 A₁B₁C₂,即加入 20 倍量的水 80 ℃ 提取 1 h。

2.2 复方鹿衔草醇提取工艺 以温度、提取时间、溶剂用量为因素,各因素分别选择3个水平,因素水平见表4。以总黄酮含量为综合指标,设计 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,结果如表5,6所示。

表4 复方鹿衔草乙醇提取工艺因素水平

水平	A 温度/℃	B 提取时间/h	C 溶剂用量/倍
1	60	1	10
2	70	2	20
3	80	3	30

表5 乙醇提取正交试验结果与直观分析

No	A	B	C	D	总黄酮/%
1	1	1	1	1	14.76
2	1	2	2	2	10.37
3	1	3	3	3	7.46
4	2	1	2	3	14.02
5	2	2	3	1	4.31
6	2	3	1	2	4.08
7	3	1	3	2	13.28
8	3	2	1	3	5.92
9	3	3	2	1	7.19
K_1	10.863	14.020	8.253	8.753	
K_2	7.470	6.867	10.527	9.243	
K_3	8.797	6.243	8.350	9.133	
R	3.393	7.777	2.274	0.490	

表6 乙醇提取总黄酮方差分析

因素	SS	f	F	P
A	17.546	2	44.1965	<0.05
B	112.035	2	282.204	<0.01
C	9.915	2	24.975	<0.05
D(误差)	0.40	2		

从方差分析结果看出,3个影响因素对总黄酮含量的影响均显著,3个因素的显著程度依次为提取时间>提取温度>溶剂用量;从直观分析结果得出复方鹿衔草醇提取的最佳工艺为 $A_1B_1C_2$,即加入20倍量60%乙醇,80℃回流提取1h。

3 讨论

本研究通过正交试验分别研究了以水和乙醇为溶剂时提取复方鹿衔草黄酮类化合物的提取工艺,确定了最佳工艺条件。以水为提取溶剂时,最佳工艺条件为加入20倍量水,80℃提取1h,此时黄酮类化合物的提取率为11.58%;以乙醇为提取溶剂时,最佳工艺条件为:加入20倍量60%乙醇,80℃回流提取1h,此时柿叶黄酮类化合物的提取率是15.38%。醇提法的黄酮提取率要高于水提法。此提取工艺的考察研究为复方鹿衔草制备工艺进一步深入研究建立了良好的基础。

[参考文献]

- [1] 刘蕾,陈玉平,万喆,等. 鹿蹄草化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(17):1762.
- [2] 张莉,余彦明,王军宪,等. 鹿衔草药理作用的研究概述[J]. 西北药学杂志,1998,13(6):270.
- [3] 陈光,徐绶绪. 柿属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2001,18(1):69.
- [4] 林娇芬,林河通. 柿叶的化学成分药理作用临床应用及开发利用[J]. 食品与发酵工业,2005,31(7):90.
- [5] 张晶,刘芳芳. 刺五加化学成分及药理学研究进展[J]. 中国野生植物资源,2008,27(2):6.
- [6] 吕虹. 葛根中总黄酮含量的测定[J]. 酿酒,2008,35(2):77.

[责任编辑 全燕]