

正交试验优选槐角中山奈酚的提取工艺

马敏^{1*}, 王莉², 李芳³, 王卫峰^{3#}(1.陕西中医学院药学院, 陕西咸阳 712046; 2.陕西省食品药品检验所, 西安 710065; 3.陕西省中医药研究院, 西安 710003)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)43-4069-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.43.12

摘要 目的: 优选槐角中山奈酚的提取工艺。方法: 以山奈酚含量为指标, 加水量、提取时间和提取次数为考察因素, 通过正交试验法对槐角中山奈酚提取工艺进行优选。结果: 最优提取工艺为以10倍量水煎煮提取3次, 每次2 h。结论: 该优选工艺合理可行, 可扩大到工业化提取。

关键词 槐角; 山奈酚; 正交试验; 提取工艺

Optimization of Extraction Technology of Kaempferol from *Sophora japonica* by Orthogonal Test

MA Min¹, WANG Li², LI Fang³, WANG Wei-feng³(1. Pharmacy College, Shaanxi University of TCM, Shaanxi Xianyang 712046, China; 2. Shaanxi Provincial Food and Drug Inspection, Xi'an 710065, China; Shaanxi Provincial Academy of TCM, Xi'an 710003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of kaempferol from *Sophora japonica*. METHODS: The extraction technology of kaempferol from *S. japonica* was optimized by orthogonal test with the content of kaempferol as index using the amount of water, extraction time and extraction times as factors. RESULTS: The optimal extraction condition was as follows: 10-folds water, extracting for 3 times, lasting for 2 h each time. CONCLUSIONS: The optimized technology is reasonable and operable, and can be extended to industrialization.

KEYWORDS *Sophora japonica*; Kaempferol; Orthogonal test; Extraction technology

槐角为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实, 性寒、味苦, 归肝、大肠经, 有清热泻火、凉血止血之功效^[1]。槐角中含有多种以苷类形式存在的黄酮类化合物, 其基本的苷元有4种, 即槲皮素、染料木素、山奈酚和异鼠李素^[2], 本研究将山奈酚含量作为评价指标。山奈酚又称山奈素、4', 5, 7-三羟基黄酮醇等, 主要是3位或3, 7位成苷而在山奈、槐角、银杏叶、金钱草中普遍存在的黄酮醇类化合物, 在槐角中含量最高, 其药理作用主要有抗氧化、抗炎、抗辐射和预防心血管疾病等药理活性^[3]。

笔者拟找到一条工艺合理、操作简单和成本低兼的水浸提法从槐角中将山奈酚提取出来, 为工业化提取提供更多的选择。本研究参考有关文献^[4-6], 采取正交试验法, 研究了各个影响因素, 确定了槐角中山奈酚提取工艺的最佳条件。

1 材料

1.1 仪器

Acquity UPLC H-Class 型超高效液相色谱仪, 包括四元高压梯度泵、自动进样器、PDA 检测器、柱温箱、EmpowerTM3 色谱工作站(美国 Waters 公司); BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯天平有限公司); 98-1-B 型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司); Synergy UV 型超纯水器(美国 Millipore 公司)。

* 硕士研究生。研究方向: 中药分析新技术。E-mail: mamin123123123@126.com

通信作者: 研究员。研究方向: 中药新药。E-mail: amelia@126.com

1.2 药材

槐角购于陕西省药材公司, 经陕西省中医药研究院王卫峰研究员鉴定为真品。

1.3 试剂

山奈酚对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110861-200304); 乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 水提取工艺

称取干燥槐角 50 g, 按正交试验设计方案, 依次加热回流水煎煮, 滤过, 合并滤液, 加热浓缩至 200 ml, 得提取液, 贮藏, 备用。

2.2 山奈酚含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: 乙腈-0.2% 磷酸溶液(23: 77, V/V); 检测波长: 370 nm; 柱温: 30 ℃; 流速: 0.3 ml/min; 进样量: 1.0 μl。在此条件下山奈酚与其他组分可达到基线分离, 理论板数按山奈酚计应不低于 4 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取山奈酚对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含 0.441 1 mg 的对照品溶液, 摇匀, 即得对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密移取“2.1”项下提取液 10 ml, 置于 100 ml 具塞锥形瓶中, 加入 10 ml 甲醇和 1 ml 25% 盐酸, 于 90 ℃ 水浴中受热水解 1 h, 取出迅速冷却, 转移至 25 ml 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 滤过, 滤液再用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,

即得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 μl,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以进样量(x,μg)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标(y),进行线性回归,得回归方程为 $y=14\ 000\ 000x+6\ 012.2$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,山奈酚进样量在0.088 22~0.882 2 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.3 单因素试验优选盐酸加入量

由于山奈酚主要与糖结合成苷而存在,所以需要用水解而得到需要测定的山奈酚苷。笔者参考文献^[9-15],在90℃下,分别加入0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 25%盐酸,测定山奈酚含量,选择最优加入量。结果表明,加入1.0 ml 25%盐酸水解后测定的山奈酚含量最高。25%盐酸加入量对山奈酚含量的影响见表1。

表1 25%盐酸加入量对山奈酚含量的影响

Tab 1 Effect of adding amount of 25% hydrochloric acid on content of kaempferol

试验号	25%盐酸加入量,ml	山奈酚含量,mg/g
1	0.5	10.44
2	1.0	14.91
3	2.0	7.55
4	3.0	2.13
5	4.0	1.47
6	5.0	0.16

2.4 正交试验优选水提取工艺

以加水量(A)、提取时间(B)、提取次数(C)为考察因素,每个因素各选3个水平,以山奈酚含量为评价指标,采用 $L_9(3^3)$ 正交试验表安排试验。因素水平见表2;正交试验结果见表3;方差分析结果见表4。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A,倍	B,h	C,次
1	8(6,6)	1.0(0.5,0.5)	1
2	10(8,8)	1.5(1.0,1.0)	2
3	12(10,10)	2.0(1.5,1.5)	3

表3 正交试验结果

Tab 3 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	山奈酚含量,mg/g
1	1	1	1	1	6.32
2	1	2	2	2	14.99
3	1	3	3	3	18.90
4	2	1	2	3	14.02
5	2	2	3	1	18.13
6	2	3	1	2	10.87
7	3	1	3	2	16.73
8	3	2	1	3	9.36
9	3	3	2	1	15.45
K_1	13.403	12.357	8.850	13.330	
K_2	14.340	14.160	14.850	14.197	
K_3	13.877	15.103	17.920	14.093	
R	0.937	2.746	9.070	0.867	

由表3、表4可知,C因素即提取次数是主要影响因素,3个因素影响强弱顺序为 $C>B>A$,即提取次数>提取时间>加水量;优选出的条件为 $A_2B_3C_3$,即12倍量水煎煮3次,每次

2 h。

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of analysis of variance

因素	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	1.316	2	0.658	0.997	>0.05
B	11.686	2	5.843	8.853	>0.05
C	127.690	2	63.845	96.735	<0.05
D(误差)	1.320	2	0.660		

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$

note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$

2.5 工艺验证试验

称取槐角药材150 g,共3份,按照最优工艺参数进行验证试验,测定山奈酚含量。结果,每1 g槐角药材中含山奈酚分别为19.07、19.16、18.99 mg,RSD=0.45%。3次验证试验结果表明,优选出来的提取工艺稳定、重现性好,能适合于大工业生产。

3 讨论

槐角中山奈酚大多与糖结合成苷(如山奈酚-3-鼠李糖双葡萄糖苷、山奈酚-3,7-双葡萄糖苷)而存在,本试验采用酸水解后,测定指标中的山奈酚含量为游离山奈酚及其苷水解后的山奈酚的总和。25%盐酸加入量过多,也会对色谱柱有污染,因此应先用单因素优选出盐酸用量。

由于山奈酚具有亲脂性,易溶于热乙醇、乙醚,微溶于水,在预试验中还考察了在相同条件下水提取、60%乙醇提取和95%乙醇提取的效果。结果表明,60%乙醇提取的山奈酚含量略高于水提取工艺,考虑到大生产的成本,选择水提取更经济、实用。

本试验用超高压液相色谱仪测定山奈酚含量,分析时间短、重复性好、准确简便,可在几分钟内完成分析,大大节约了分析时间,提高了检测效率。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:334.
- [2] 王志玲,勾凌燕,刘景东,等.槐角不同部位中主要黄酮苷元成分的比较[J].时珍国医国药,2012,23(3):594.
- [3] 雷晓晴,何珺,何军,等.槐角提取物中山奈素纯化工艺研究[J].中药材,2011,34(9):1446.
- [4] 范卓文,张娜,于海龙,等.钱草硝石颗粒提取工艺研究[J].中医药信息,2011,28(5):40.
- [5] 刘松山,谈静,宋英,等.正交设计优化四生颗粒的醇提工艺[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):25.
- [6] 何军,雷晓青,何珺,等.HPLC法同时测定槐角中4种黄酮苷元组分[J].安徽大学学报,2012,36(4):84.
- [7] 李春花,刘雪丽,郑文丽,等.正交试验优选黄蜀葵花中总黄酮的提取工艺[J].中国药房,2013,24(27):17.
- [8] 刘计权,谢树莲,尹晓琴,等.正交试验法优选犬问荆山奈素提取中水解条件的研究[J].山西中医学院学报,2011,12(4):17.
- [9] 曹明成.百蕊草提取工艺研究[J].现代中药研究与实践,2004,18(1):57.
- [10] 冉晓燕,胡德禹,薛伟.槐角中总黄酮的提取工艺研究[J].贵州教育学院学报,2009,20(6):22.
- [11] 光琴,周亚球.HPLC测定罗布麻叶中总黄酮的含量[J].中

CAChe6.1 模拟软件优选灯盏花素环糊精包合工艺

刘美辉*,朱劲华(江苏建康职业学院,南京 210029)

中图分类号 R94;TP32 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)43-4071-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.43.13

摘要 目的:优选灯盏花素环糊精包合工艺。方法:以灯盏花素与不同环糊精包合物能量变化值为指标,通过CAChe6.1软件模拟灯盏花素环糊精包合过程并优选包合灯盏花素的环糊精类型。结果: α -环糊精包合灯盏花素效果最佳,能量变化值最小,为14 k/mol。结论:该模拟软件优选工艺节省了大量时间,使具体试验得到优化。

关键词 CAChe6.1 模拟软件;灯盏花素;包合工艺

Optimization of Inclusion Technology of Breviscapine Cyclodextrin by Using CAChe6.1 Simulation Software

LIU Mei-hui, ZHU Jin-hua (Jiangsu Jiankang Vocational College, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the inclusion technology of breviscapine cyclodextrin by using CAChe6.1 simulation software. METHODS: The optimal cyclodextrin of breviscapine was optimized using energy change data of breviscapine and different cyclodextrin inclusions as index. RESULTS: The inclusion effect of α -cyclodextrin was the best, the energy variation is 14 k/mol. CONCLUSIONS: The simulation software optimizes the technology to save a lot of time and optimizes the specific trials.

KEYWORDS CAChe6.1 simulation software; Breviscapine; Inclusion technology

中药灯盏花素是从植物灯盏花(灯盏细辛)中提取分离得到的黄酮类成分。灯盏花素的主要有效成分是灯盏乙素,还有少量灯盏甲素及其他黄酮类成分。主要成分灯盏乙素又为野黄芩苷,是治疗心脑血管疾病的主要活性成分,其化学名称为4',5,6-三羟基黄酮-7-葡萄糖醛酸苷。早期临床发现灯盏乙素对高血压、脑溢血、脑血栓、冠心病等心脑血管疾病均有一定疗效,所以在临床上主要用于治疗脑血栓、脑梗塞、冠心病、心绞痛等疾病,疗效确切^[1]。但是有研究表明,灯盏花素在水中的溶解度很差,将其制成口服制剂后吸收效果也不好,所以将灯盏花素制成口服片剂生物利用度非常低,只有(0.40±0.19)%^[2]。而将其制成灯盏花素注射剂,临床上医护人员已认识到中药注射剂的给药途径、疗效作用、安全性不同于传统的煎剂,容易出现峰谷现象,更有必要强调其安全性^[2]。

为此,笔者拟采用环糊精(CD)包合灯盏花素的方法,提高灯盏花素口服剂型的生物利用度,促进灯盏花素在体内的吸收,从而保证药物疗效在体内的正常发挥;同时,溶解度比灯盏花素提高多倍,血药浓度提高,生物利用度明显增加^[3]。CD自身具有疏水内腔和亲水表面结构,而内腔尺寸大小不同影响CD对药物在水溶液中的增溶程度。笔者采用CAChe6.1软件^[4],对不同CD包合灯盏花素的过程进行模拟^[5]。CD作为一类重要的分子受体(主体),选择性结合底物(客体)形成超

分子,已经成为化学和生物化学等领域的研究热点^[6-7]。CD的分子识别过程涉及到范德华力、疏水、静电力与氢键等多种非共价键力的协同作用^[8-9],因此深入研究CD及其衍生物分子识别对药物的包合最优化构型具有重要意义。与计算机模拟技术相结合,对于研究各种复杂功能基团修饰CD的结构、修饰基与空腔相对关系以及客体分子在CD空腔内的位置将起到积极的指导作用,也对研究预测CD包合物构型具有理论指导意义^[10]。

1 材料

1.1 仪器

TW 40NS 型胶体磨(天津市鑫善机械制造有限公司); KQ-50B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

灯盏花素对照品(上海华东工业供销公司,批号:20100506,纯度:98%); β -CD(中国医药集团上海化学试剂公司,批号:20100508);甲基 β -CD、羟乙基 β -CD、 α -CD、羟丙基 β -CD(礼泉县化工有限实业公司,批号:20100709);二乙胺、N,N-二甲基苯胺、二甲胺、甲酰胺、三乙胺、95%乙醇、无水乙醇、N,N-二甲基甲酰胺均为分析纯,甲醇为色谱纯,36%醋酸为化学纯。

国实验方剂学杂志,2011,17(6):103.

- [12] 张媛,王晓杨,张志琴.HPLC同时测定桑葚口服液中的槲皮素和山奈酚的含量[J].江西中医学院学报,2013,25(1):46.
[13] 张秀娟,蒋琳兰.高效液相色谱法测定复方银茶方银杏黄

酮苷含量[J].医药导报,2009,28(2):249.

- [14] 艾国民,王克让,刘宏民,等.高效液相色谱法测定马桑叶中总黄酮含量[J].郑州大学学报,2006,38(1):70.
[15] 严蕾,石晓妮,孙莲.液相色谱法测定植物样品中槲皮素和山奈酚[J].中国卫生检验杂志,2008,18(6):1056.

(收稿日期:2014-04-16 修回日期:2014-06-12)

* 讲师,硕士。研究方向:药物新剂型。电话:025-85337566。

E-mail:39544845@qq.com