

进行验证性实验, 桉油平均包合率为: 86.35%, 包合物收得率为: 87.88%, 两项指标均超过正交设计试验中的最大值。

3 讨论

3.1 目前在中药挥发油包合物制备工艺研究以及中药新药研制的过程中, 对挥发油包合率的考察大多以包合物中提取的挥发油量为考察指标, 缺乏对挥发油中有效成分包合率的考察。本实验以挥发油中有效成分桉油精为考察指标, 来确定挥发油的最佳包合工艺, 较为科学、准确。采用气相色谱法测定桉油精具有快速、准确、重复性好特点, 含量测定结果比较可靠。

3.2 本研究确定最佳工艺为环糊精 桉油为 8:1, β 环糊精, 水为 1:10 包合时间为 1 h 包合温度为 30℃。经过包合作用能够达到使其固化形成粉末利于制剂的目的, 为进一步的药效学研究及临床应用提供了一定的药学基础。

参 考 文 献

- [1] Pascal J De laquis, Karen Stanich, Benoit Girard, et al. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dillicianone, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, 74: 101.
- [2] 周建娅, 唐法娣, 王砚, 等. 二氧化硫吸入致大鼠肺组织核因子 κ B 的激活及桉油的抑制作用. *中华结核和呼吸杂志*, 2003, 26(5): 311.
- [3] M De Vincenzi, M Sikanç, A De Vincenzi, F, et al. Safety data review Constituents of aromatic plants: eucalyptol. *Fitoterapia*, 2002, 73: 269.
- [4] 张启明, 姜平川, 刘刚, 等. 气相色谱法测定岗松油中芳樟醇和桉油精的含量. *中国药学杂志*, 2004, 39(4): 298-300.
- [5] 董方言. 现代实用中药新剂型新技术. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 571-572.
- [6] 胡永芳, 焦海胜, 蔡兴国, 等. 正交实验研制烈香杜鹃油 β 环糊精包合物. *中成药*, 2002, 24(10): 746-749.

(2005-08-12 收稿)

正交试验法优选东紫苏中黄酮类化合物的提取工艺

胡浩斌, 简毓峰, 曹 宏, 刘建新, 郑旭东

(陇东学院, 甘肃庆阳 745000)

摘要 目的: 研究东紫苏中黄酮类化合物的提取工艺。方法: 将正交试验和方差分析应用于微波辅助流动萃取东紫苏中黄酮类化合物的含量测定中, 以黄酮类化合物的含量为指标, 优选出了最佳的提取工艺。结果: 经研究优选出的最佳提取工艺: 萃取溶剂为 60% 的乙醇水溶液、微波功率为 600W, 溶剂流速为 6 ml/min, 萃取管内径为 10 mm, 平均回收率为 92.79%~96.64%, $RSD < 1.30\%$ ($n=5$)。结论: 东紫苏中含有丰富的黄酮类化合物, 微波辅助流动法具有操作简单、安全、快速、萃取率高等优点。此结果为东紫苏植物药理活性的研究提供了理论依据。

关键词 正交试验; 方差分析; 微波辅助流动; 东紫苏; 总黄酮

中图分类号: O657.31 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2006)03-0296-03

东紫苏 (*Elythia bodinieri* Vaniot) 又名“凤尾茶”, 为唇形科植物多年生矮小草本, 生于山坡、路旁草丛中或灌木林下, 主要分布在甘、黔、蜀和滇等西部地区^[1]。性平、味辛。其全草可入药, 是民间常用的一种中草药, 具有发散解表、理气和胃等功效, 主要用来治外感风寒、头身痛、咽喉痛、消化不良和肝炎等症^[2]。本文采用微波辅助流动萃取法对甘肃东紫苏中的黄酮类成分进行了分析测定, 取得了令人满意的效果, 为正确评价该药用植物的质量和开发利用提供了科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂、原料 WR-C型微波制样系统 (北京盈安美诚科学仪器有限公司), FI2100型流动注射分析系统 (北京海光科学仪器有限公司), 756型紫外-可见分光光度计 (上海精密仪器有限公司)。所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水, 芦丁标准品由中国药品生物制品检定所提供。新鲜的东紫苏全草于 04 年 6 月采自甘肃子午岭地区, 经西北师范大学生命科学学院廉永善教授鉴定为唇形科植物。

基金项目: 陇东学院科研资助项目 (XYZK0503); 甘肃省十五科技攻关项目 (ZGS035-A43-070)

作者简介: 胡浩斌 (1969-), 男, 甘肃庆阳人, 副教授, 硕士, 主要研究方向为天然有机化学。E-mail: hhb88@126.com

1.2 黄酮类成分的含量测定

1.2.1 样品处理: 分别取新鲜的东紫苏根、茎、叶几部分, 用自来水冲洗干净, 再用蒸馏水洗涤 3 次, 晾干、剪碎, 放入烘箱中, 40℃下干燥至恒重, 用研钵研细, 过 20 目筛得黄绿色粉末作为样品。准确称取根、茎、叶干粉样品各 0.2500 g 分别置于萃取管中, 将萃取管装入微波炉中, 将配制成的一定浓度的乙醇溶液泵入到萃取管中, 同时选择适当的功率和时间进行萃取。将萃取液收集于 50 ml 的容量瓶中, 萃取完成后, 关闭微波炉, 继续泵入 4~5 ml 相同浓度的乙醇溶液淋洗样品, 并把淋洗液一并转入到容量瓶中, 用乙醇定容, 作为供试品溶液。

1.2.2 标准曲线的绘制及总黄酮的测定: 东紫苏中的黄酮类化合物总含量的测定采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaOH 分光光度法^[3]。准确称取在 120℃干燥至恒重的芦丁对照品 10 mg 置于 50 ml 容量瓶中加乙醇溶解, 定容至刻度, 摇匀。准确地吸取此溶液 0.1, 2, 3, 4, 5 ml 分别置于 25 ml 容量瓶中, 先加入 5% 的 NaNO_2 溶液 1 ml, 摇匀、还原 6 min, 加入 10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1 ml, 摇匀、络合 6 min, 加入 4% 的 NaOH 溶液 10 ml, 摇匀、显色 15 min, 最后用水稀释至刻度, 摇匀、放置 15 min, 进行全波长扫描, 在 500 nm 处有最大吸收。用第一瓶溶液作空白, 在波长 500 nm 处测定溶液的吸光度, 并以吸光度 (A) 作纵坐标, 溶液浓度 (C) 作横坐标绘制标准曲线。结果表明: 吸光度与浓度呈良好的线性关系, 经最小二乘法回归处理得到方程: $A = 0.4929C + 0.0022$, 相关系数 $r = 0.9998$, RSD 为 0.21%。

按上述方法, 对各供试品溶液进行还原、络合、显色, 并测定其在 500 nm 处的吸光度。根据所测样品溶液的吸光度值, 用回归方程计算出总黄酮的含量。

2 结果与讨论

2.1 最佳萃取条件的选择 本文以东紫苏根中总黄酮含量的测定为例, 采用正交试验 $L_{16}(4^4)$ 法, 按 4 因素 4 水平实验 (表 1) 来选择最佳的提取条件, 结果见表 2。

表 1 因素水平表

影响因素		水平			
		1	2	3	4
微波功率 /W	A	400	500	600	700
溶剂流速 /ml/min	B	2	4	6	8
溶剂浓度 /%	C	20	40	60	80
萃取管内径 /mm	D	8	10	18	22

表 2 正交实验设计及数据处理结果 (n=3)

实验次数	影响因素				总黄酮含量 /%	RSD/%
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	110.36	1.12
2	1	2	2	2	133.68	0.72
3	1	3	3	3	141.46	0.68
4	1	4	4	4	127.48	1.08
5	2	1	2	3	132.44	0.92
6	2	2	1	4	125.26	0.94
7	2	3	4	1	137.70	0.99
8	2	4	3	2	139.28	1.02
9	3	1	3	4	140.52	0.86
10	3	2	4	3	139.74	0.71
11	3	3	1	2	133.64	0.83
12	3	4	2	1	142.96	0.85
13	4	1	4	2	134.14	1.29
14	4	2	3	1	150.08	0.97
15	4	3	2	4	142.46	1.23
16	4	4	1	3	123.08	1.04
ΣK_1	512.98	517.46	492.34	541.10		
ΣK_2	534.68	548.76	551.54	540.74		
ΣK_3	556.86	555.26	571.34	536.72	G=2154.28	
ΣK_4	549.76	532.80	539.06	535.72	CT=2900576.65	
K_1	128.25	129.37	123.09	135.28		
K_2	133.67	137.19	137.89	135.19		
K_3	139.22	138.82	142.84	134.18		
K_4	137.44	133.20	134.77	133.93		
R	10.97	9.45	19.75	1.35		

从 R 值可以看出, 溶剂浓度 C 的极差 R 很大, 即萃取溶剂是影响萃取效果的最重要因素, 因为它不仅影响微波的吸收, 而且也影响目标物的溶解, 是提高萃取率和萃取选择性的主要因素。且 $K_3 > K_2 > K_4 > K_1$, 说明选择第三水平较好, 即萃取溶剂为 60% 的乙醇溶液。同理, 我们选择溶剂流速为 6 ml/min 和微波功率为 600W 时萃取效果较好。D 因素的影响虽不显著, 但根据 K 值, 又考虑时间因素, 故选择萃取管内径为 10 mm 来进行萃取。

同时, 我们对上面的实验结果进行方差分析, 结果见表 3。

表 3 方差分析

方差来源	Q	f	方差	f	$F_{\text{临界值}}$
微波功率 /W	A 282.4	3	94.14	10.1	$F_{0.05, 3, 3} = 9.28$
溶剂流速 /ml/min	B 215.3	3	71.78	7.73	$F_{0.1, 3, 3} = 5.39$
溶剂浓度 /%	C 844.9	3	281.6	30.3	$F_{0.2, 3, 3} = 2.92$
萃取管内径 /mm	D 5.664	3	1.888	0.203	
误差效应	27.86	3	9.287		

从表 3 可以看出, E_b 远小于 $E_{b\text{临界值}}$, 说明萃取管内径对测定影响不大, 而 E_A 、 E_C 基本上都大于 $E_{b\text{临界值}}$, 说明微波功率, 特别是萃取溶剂对测定影响较大, 这与上面极差分析的结果基本相符。

2.2 稳定性试验 在 60 min 内每隔 15 min 分别测定供试品和标准对照品溶液的吸光度, 吸光度值

均未发生改变。放置 3.6.12 h 吸光度也基本不变。说明各样品提取液及芦丁标准品显色反应较稳定。

2.3 测定结果及回收率 根据以上所选最佳实验条件, 对东紫苏样品中黄酮类成分的含量进行测定。同时, 采用标准加入法, 加入不同量的芦丁对照品进行回收率实验, 结果见表 4。

表 4 黄酮类成分的含量及回收率实验结果 (n=5)

部位	平均含量 (mg/g)	RSD%	加入量 (mg/g)	测得值 (mg/g)	平均回收率%
根	133.7	0.98	60.00, 80.00, 100.00, 120.00	180.2, 192.7, 234.8, 243.7	94.93
茎	78.51	1.21	60.00, 80.00, 100.00, 120.00	130.4, 142.8, 164.7, 187.9	92.79
叶	25.47	1.04	80.00, 100.00, 120.00, 150.00	98.9, 126.1, 139.2, 169.5	96.64

实验表明: 东紫苏中的黄酮类化合物主要集中在根部, 测定结果 $RSD < 1.30\%$, 回收率 $> 92\%$, 说明该方法具有很好的重复性和较高的准确率, 故实验所确定的工艺合理是可信的, 可作为东紫苏中黄酮类化合物的测定方法。

3 结论

(1) 东紫苏中含有大量的黄酮类化合物, 特别是根中的含量最高为 133.7 mg/g, 茎次之为 78.51 mg/g, 叶中较低为 25.47 mg/g, 所以根和茎部分是提取黄酮类化合物的最好资源; (2) 通过实验选出的最优提取工艺为 $A_3 B_3 C_3 D_2$, 即选择微波功率为 600W, 溶剂流速为 6 ml/min, 萃取溶剂为 60% 的乙醇水溶液, 萃取管内径为 10 mm 时萃取效果较好; (3) 微波技术能使植物细胞破壁, 有效地提高萃取

量^[4], 同时微波辅助流动萃取法具有速度快、操作安全、萃取量高、萃取完成后不需要过滤等优点, 在中草药生产中具有很好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1977, 66: 336
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 489
- [3] 璐雪. 中药制剂分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 154
- [4] 张代佳, 刘传斌, 修志龙, 等. 微波技术在植物有效成分提取中的应用. 中草药, 2000, 31(9): 5

(2005-08-08 收稿)

欢迎订阅 2006年《中药材》杂志

《中药材》杂志是经国家科委和新闻出版署批准出版的国内外公开发行的国家级中药科技学术刊物。由国家食品药品监督管理局主管, 国家食品药品监督管理局中药材信息中心站主办。主要报道中药材的种(养)技术(GAP), 资源开发和利用, 药材的加工炮制与养护, 鉴别, 成分, 药理, 临床, 制剂, 用药等方面的研究论文。并辟有专论、考证、综述、药膳、经验、动态与信息等栏目。内容丰富, 信息面广。创刊近三十年来, 质量不断提高, 为我国的中医药事业作出了突出贡献。多次荣获全国医药信息成果奖, 为“美国《医学索引》(M)”、“中国核心期刊数据库”、“中国期刊全文数据库”、“中国学术期刊综合评价数据库”和“中文期刊数据库”收录期刊, 为“中国科技论文统计源刊”核心期刊。1999年中国科技期刊总被引频次, 《中药材》杂志排第81名(统计刊源为1372种)。为“中国自然科学核心期刊”。《中药材》杂志发行全国医药卫生行业及大专院校、科研院(所)等单位和个人; 国外发行日本、美国等二十多个国家和地区, 是发行量较大的科技杂志。

《中药材》杂志为国际大16开本, 96~120页, 封页采用157克进口铜版纸彩印, 内文为80克书写纸。《中药材》杂志为月刊, 2006年不加价, 每期定价仍为12.5元, 全年(12期)定价150元。现已开始订阅, 请订户通过邮局或银行直接汇款至《中药材》杂志编辑部, 款到即寄发票, 并依时寄发杂志。