

槐米中芦丁的提取工艺研究

张 恒 张 洪

(武汉大学人民医院药学部, 武汉, 430060)

摘要 目的:研究槐米中芦丁的超声乙醇提取和 β -环糊精辅助超声水提工艺。方法:通过正交试验,采取超声乙醇提取和 β -环糊精辅助超声水提取方法,以芦丁的含量为测定指标,采取高效液相色谱法测定不同提取工艺中的芦丁含量,计算出提取率,从而优选槐米中芦丁的提取工艺。结果:超声乙醇提取法:超声时间 30 min,乙醇浓度 70%,乙醇体积 50 mL 为最佳工艺,最高提取率为 19.25%; β -环糊精辅助超声水提法:超声时间 30 min, β -环糊精重量 3.0 g,水体积 50 mL 为最佳工艺,最高提取率为 18.32%。结论:该方法简便快捷、提取率高,值得推广应用。

关键词 槐米;芦丁; β -环糊精

Study on Extraction Technology of Rutin from Flos Sophorae

Zhang Heng, Zhang Hong

(Department of Pharmacy, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract Objective: To study the ultrasonic extraction technology of rutin from Flos Sophorae with ethanol solution and β -cyclodextrin ultrasonic-assisted extraction process. **Methods:** HPLC method was established for the determination of rutin by orthogonal test design with the two extraction methods to calculate the extraction rate and optimize the extraction process of rutin from Flos Sophorae. **Results:** The optimal conditions for ultrasonic extraction with ethanol solution were determined as extraction for 30 minutes with 70%-concentrated and 50ml ethanol. The highest extraction rate was 19.25%. The optimal conditions for β -cyclodextrin ultrasonic-assisted extraction were as follows: the extraction time is set at 30 min, the weight of β -cyclodextrin is 3.0g, water volume is 50ml and the highest extraction rate was 18.32%. **Conclusion:** This method is simple and efficient, extraction rate is high, it's worth using widely.

Key Words Flos Sophorae; Rutin; β -cyclodextrin

中图分类号:R284.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.04.041

槐米,为豆科植物槐的花蕾,该药性微寒、味苦,具有凉血止血、清肝泻火的功效,用于便血、痔血、血痢、崩漏、吐血、肝热目赤、头痛眩晕等^[1]。槐米的主要成分是芦丁(Rutin),又称芸香苷,具有抗炎、维生素 P 样作用和抑制醛糖还原酶作用,它在人体内的毒性很低,在临床上用于治疗腋窝淋巴结切除后的淋巴水肿^[2]等疾病,其难溶于冷水(1:8 000),略溶于沸水(1:200)^[3],由于芦丁分子中含有多个酚羟基,呈弱碱性,易溶于碱水,在热水、热醇中均由较大的溶解度,常用的提取溶剂有水、醇、冷碱、热碱,提取方法有水煎煮法、连续回流法、热碱提取法、超声提取法等^[4]。水煎煮法简单易行,成本低,但是芦丁的提取率低,并且受温度影响很大^[5]。连续回流法需大量有机溶剂,生产成本低^[6],热碱提取法常用的是石灰水法,但该方法存在所需条件较高且产品纯度不够等缺点^[7],所以需要探索一种高效、方便的芦丁提取方法。

超声波提取技术是近年来在中药材提取方面一

种较为成熟的方法,主要是利用机械振动波破坏中药材的细胞,使溶媒渗透到中药材细胞中,从而加速有效成份溶解,提高浸出率,是高效、节能的提取方法。本实验采用正交试验对超声乙醇提取、 β -环糊精辅助超声水提取两种方法进行实验,优选出槐米中芦丁的提取方法。

环糊精是 D-吡喃葡萄糖单元通过 α -1,4-糖苷键首尾相连形成的具有截锥状结构的大环化合物,椎体外壁具有亲水性,椎体内壁具有疏水性^[8]。常见的有 α 、 β 和 γ -环糊精,其中以 β -环糊精在药剂学中应用最广泛。 β -环糊精成筒状结构,小分子的药物与其制成环糊精包合物后,通过范德华力、氢键和疏水作用,形成主客体化合物^[6]。目前已有许多学者采用 β -环糊精辅助提取中药中的黄酮,取得了一定成效^[9-12]。

1 仪器与材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Agilent 1100,美国安捷伦),电热鼓风干燥箱(WD-43,天津泰斯特仪器有

限公司),电子天平(CPA124S,德国赛多利斯),超声波清洗机(KQ-100DE,昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 受试药物 槐米(亳州市长生中药饮片有限公司,批号:20140218),β-环糊精(aladdin, Lot# D1315035),芦丁对照品(中国食品药品检定研究所,批号:100080-200707),纯净水(宜昌娃哈哈饮料有限公司),乙腈、甲醇为色谱纯,磷酸、乙醇为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:Venusil MP C₁₈(250 mm × 46 mm,5 μm);流动相:乙腈:0.1% 磷酸 = 20% : 80%;柱温:30 ℃;检测波长:258 nm;进样量 10 μL;流速:1 mL/min。

2.2 标准品溶液的制备 精密称取芦丁标准品 25 mg,用甲醇定容于 25 mL 容量瓶中,得 1 000 μg/mL 标准品溶液,分别取 0.1 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、3.0 mL,用甲醇定容于 10 mL 容量瓶中,得到 10、50、100、150、200、300 μg/mL 的标准品溶液,按上述色谱条件,分别进样检测,以标准品进样浓度 X(μg/mL)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标进行线性回归,得回归方程:Y = 18.767X-26.675, R² = 0.999 5。结果表明,芦丁标准品进样量在 10 ~ 300 μg/mL 围内具有良好的线性关系。

2.3 正交试验考察提取工艺

2.3.1 超声乙醇提取法 槐米粉碎过 200 目筛,干燥箱中干燥 8 h,精密称取 0.50 g 槐米粉末,按正交试验设计,乙醇浸泡 1 h,超声,趁热过滤,取 1 mL 滤液于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,得供试品溶液。参考相关文献,选择 3 个因素(超声时间(A)、乙醇浓度(B)、乙醇体积(C)),3 个水平(如表 2)进行正交试验,通过考察芦丁提取率来选择最佳提取方法。

表 1 正交试验因素水平

	A (超声时间/min)	B (乙醇浓度/%)	C (乙醇体积/mL)	D (空白)
1	20	80	40	
2	30	70	50	
3	40	60	60	

比较表 2 中的 A、B、C 3 个因素的 R_j 的大小,可以看出 A 因素为最重要因素,B 和 C 因素为次要因素,3 个要素之间的主次关系为:A > B > C。R_a > R_b > R_c > R_e (R_e = 0.0800),表明 A、B、C 3 个因素存在水平效应差异。

按各因素的最好水平选取 A₂B₂C₂ 作为超声乙

醇提取法提取芦丁的最优组合,即超声时间 30 min,乙醇浓度 70%,乙醇体积 50 mL。在最优条件下进行 3 次平行试验,所得芦丁平均提取率为 19.25%。由表 3 可以看出超声时间和乙醇浓度对芦丁提取率具有显著影响(P < 0.05)。

表 2 超声乙醇提取法正交试验结果

试验号	超声时间 min	乙醇浓度 %	乙醇体积 mL	空白列	芦丁提取率 %
1	1	1	1	1	17.76
2	1	2	2	2	18.43
3	1	3	3	3	17.55
4	2	1	2	3	19.06
5	2	2	3	1	18.93
6	2	3	1	2	18.37
7	3	1	3	2	17.82
8	3	2	1	3	18.24
9	3	3	2	1	17.92
k1j	53.7400	54.6400	54.3700	54.6100	164.0800
k2j	56.3600	55.6000	55.4100	54.6200	
k3j	53.9800	53.8400	54.3000	54.8500	
优水平	A ₂	B ₂	C ₂		
Rj	0.8733	0.5867	0.3700	0.0800	
	A > B > C				
优组合	30	70	50		

表 3 超声乙醇提取法正交试验方差分析

方差来源	S ²	df	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
A	1.3985	2	0.6992	113.8011	19	99
B	0.5177	2	0.2588	42.1266		
C	0.2576	2	0.1288	20.9638		
D(空列)	0.0123	2	0.0061			
误差	0.0123	2	0.0061			
总变异	2.1861	8				

2.3.2 β-环糊精辅助超声水提法 按正交试验设计,精密称取 β-环糊精若干加入纯净水中充分溶解,再精密称取 0.50 g 槐米粉末加入其中,浸泡 1 h,超声,趁热过滤,取 1 mL 滤液进 25 mL 容量瓶中,纯净水定容至刻度,得供试品溶液。

参考相关文献,选择 3 个因素超声时间(A)、β-环糊精重量(B)、水体积(C),3 个水平(如表 5)进行正交试验,通过考察芦丁提取率(%)筛选最佳提取方法。

表 4 正交试验因素水平

	A (超声时间/min)	B (β-环糊精重量/g)	C (水体积/mL)	D (空白)
1	20	2.0	40	
2	30	3.0	50	
3	40	4.0	50	

比较表 5 中的 A、B、C 3 个因素的 R_j 的大小,可

以看出 A 因素为最重要因素,B 和 C 因素为次要因素,3 个要素之间的主次关系为: $A > B > C$ 。 $R_a > R_b > R_c > R_e$ ($R_e = 0.1400$),表明 A、B、C 3 个因素存在水平效应差异。

表 5 β -环糊精辅助超声水提法正交试验结果

试验号	超声时间 min	β -环糊精 重量%	水体积 mL	空白列	芦丁提取率 /%
1	1	1	1	1	16.39
2	1	2	2	2	17.23
3	1	3	3	3	16.67
4	2	1	2	3	18.12
5	2	2	3	1	18.35
6	2	3	1	2	18.16
7	3	1	3	2	17.69
8	3	2	1	3	18.03
9	3	3	2	1	17.92
k1j	50.2900	52.2000	52.5800	52.6600	158.5600
k2j	54.6300	53.6100	53.2700	53.0800	
k3j	53.6400	52.7500	52.7100	52.8200	
优水平	A2	B2	C2		
Rj	1.4467	0.4700	0.2300	0.1400	
A > B > C					
优组合	30	3	50		

表 6 β -环糊精辅助超声水提法正交试验方差分析

方差来源	S ²	df	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
A	3.4487	2	1.7243	115.1269	19	99
B	0.3367	2	0.1683	11.2396		
C	0.0896	2	0.0448	2.9918		
D(空列)	0.0300	2	0.0150			
误差	0.0300	2	0.0150			
总变异	3.9050	8				

按各因素的最好水平选取 A₂B₂C₂ 作为 β -环糊精辅助超声水提法提取芦丁的最优组合,即超声时间 30 min, β -环糊精重量 3.0 g,水体积 50 mL。根据得出的最优条件进行验证,3 次平行试验所得芦丁平均提取率为 18.32%。由表 6 可以看出超声时间对芦丁提取率的影响达到显著水平。

3 讨论

本文在考察超声功率对芦丁提取率的影响时发现,随着功率的增加,提取率不断增加,故单因素试验及正交实验均采用最高功率 100 W 进行提取。由于随着超声时间的延长,水浴温度可上升至近 50 ℃,所以在本实验中均将水浴温度调至 50 ℃,以减少误差,故单因素试验不考虑温度的影响。在用环糊精辅助提取的时候,受温度影响比较大,放置一段时间会有絮状物出现,所以将提取液趁热过滤之后将滤液迅速取 1 mL 近 25 mL 容量瓶中,用纯净水定容,制成供试品溶液,检测之前再超声溶解。

超声乙醇提取法主要是利用芦丁在乙醇中的溶解度高的原理, β -环糊精辅助超声水提与单纯超声水提能显著提高槐米中芦丁提取率的主要机制是:在提取过程中, β -环糊精与芦丁形成包合物^[13],从而增加了芦丁的溶解度,提高提取率。

超声乙醇提取方法简便快捷,提取率高,是现在中药提取常用的方法,但乙醇易燃,安全性不高,且在后期的提纯过程中耗时较长。 β -环糊精辅助超声水提法提取率较超声乙醇提取法略低,但 β -环糊精安全无毒,对热稳定,价廉易得^[14],与药物包合后能增加药物的稳定性、降低药物的刺激性和毒副作用、调节给药速率,对药物新制剂、新剂型的研究提供了很大帮助,且本方法污染少、成本低、操作简单,也值得推广和大规模生产的方式。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:人民卫生出版社,2010:333.

[2] Casley-Smith J R, Morgan R G, Pillar N B. Treatment of lymphedema of the arms and legs with 5,6-benzo-[alpha]-pyeone[J]. MedChem, 1993,329(16):1158-1163.

[3] 付起凤,王德娟,孟凡佳. 正交法优化槐米中芦丁的超声提取工艺[J]. 中医药信息,2012,29(6):49-52.

[4] 魏彩霞,谢俊峰,高媛媛,等. 槐米中芦丁的超声辅助提取工艺研究[J]. 制剂技术,2010,19(7):36-37.

[5] 李春燕. 浅谈 β -环糊精在药物制剂中的应用[J]. 中国医药指南, 2012,10(9):3-54.

[6] 郭玉,唐国涛,陈淑娟,等. 槐花米中芦丁提取方法的比较研究[J]. 中成药,2007,29(11):1675-1677.

[7] 赵东维,包木太,张吉祥,等. 正交试验法优选槐米中黄酮的超声波提取工艺[J]. 青岛科技大学学报:自然科学版,2011,32(6):630-634.

[8] 廖荣强,刘满朔,廖霞俐,等. 基于环糊精的智能刺激响应型药物载体[J]. 化学进展,2015,27(1):79-90.

[9] 吴春芝,谷福根,师帅,等. β -环糊精辅助提取沙棘总黄酮工艺研究[J]. 中国药业,2012,21(14):65-67.

[10] 朱德艳. β -环糊精辅助提取葛根黄酮的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):317-318.

[11] 周春晖,李俊. β -环糊精辅助提取金银花中总黄酮的工艺研究[J]. 中成药,2010,32(10):1796-1798.

[12] 谷福根,韩磊,孟根达来,等. β -环糊精选择性提取广枣总黄酮的工资金研究[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(1):110-114.

[13] 任晓文,王玉丽,张士俊,等. β -环糊精对黄酮类结构包合物作用的理论研究[J]. 中草药,2008,39(9):1308-1312.

[14] 张振海,刘力,徐德生. 环糊精辅助提取丹参工艺的研究[J]. 中成药,2005,27(3):264-266.