

一枝黄花的提取工艺优选及质量控制

冯 华 邹孔强 王小东 张 强

(贵州省遵义市药品检验所, 贵州 遵义 563000)

摘要:目的 筛选一枝黄花中有效成分芦丁提取工艺的最优条件及对芦丁进行含量测定。方法 采用正交试验法,以提取时间、提取次数、甲醇质量分数为考察因素,以芦丁含量为指标,对提取条件进行优选。采用高效液相色谱(HPLC)法对芦丁含量进行测定。结果 最佳提取工艺为提取时间 30 min,提取次数 3 次,甲醇质量分数 70%。含量测定以乙腈-甲醇-0.4% 醋酸溶液(16:8:76)为流动相,流速为 1.0 mL/min,检测波长为 360 nm,线性范围为 0.687 6~1.604 4 μg ($r=0.999 5$),平均回收率为 99.27%, RSD 为 0.69% ($n=6$)。结论 优选的工艺可行,具有操作性。用 HPLC 法测定含量简便、灵敏、准确。

关键词: 提取工艺;正交试验;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号 R284.2 R282.71

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2010)08-0049-02

Study on Extracting Technology of Solidago Decurrens Lour and Its Quality Control

Feng Hua, Zou Kongqiang, Wang Xiaodong, Zhang Qiang

(Zunyi Institute for Drug Control, Zunyi, Guizhou, China 563000)

Abstract Objective To optimize the extracting technology of the effective ingredient rutin from *Solidago decurrens* Lour and to establish its quality control. **Methods** The orthogonal test was used, with the extracting time, extracting times and methanol concentration as the factors, the content of rutin as the index for screening the extracting condition. Rutin content was determined by the HPLC methods. **Results** The best optimized extracting procedure was: each time 30 min, extracting for 3 times and 70% methanol. The Diamonsil C₁₈ column was used with the mobile phase of CH₃CN-methanol-0.4% acetic acid aqueous solution(16:8:76) the detection wavelength was 360 nm, the flow rate was 1.0 mL/min. The good linear range of rutin was within 0.687 6-1.604 4 μg , $r=0.999 5$. The average recovery rate was 99.27% and RSD was 0.69% ($n=6$). **Conclusion** The optimized technology is feasible and easily operative. The HPLC determination method for the rutin content is simple, sensitive and accurate.

Key words: extracting technology; orthogonal design; HPLC; content determination

一枝黄花是菊科植物一枝黄花 *Solidago virga-aurea* L. var. *leiocarpa* (Benth) A. Gray 的干燥全草,为贵州省少数民族用药^[1],具有疏风散热、解毒消肿、退黄疸的功效,常用于治疗感冒、百日咳、黄疸型肝炎、扁桃体炎。本试验采用正交试验法,以有效成分芦丁为参考指标,对一枝黄花提取工艺进行优选及质量控制进行研

究,为一枝黄花的开发利用及质量控制提供依据,现报道如下。

1 仪器与试剂

Waters1525 型高效液相色谱仪;KQ-300DE 型超声仪。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 0080-9705);一枝黄花药材(采集于遵义县,经鉴定为菊科植物一枝黄花的干燥全草);甲醇

表 1 二氯甲烷回收率试验 ($n=9$)

加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
180	181.26	100.70		
180	176.84	98.24		
180	178.56	99.20		
225	223.65	99.40		
225	224.10	99.60	98.99	1.04
225	221.62	98.50		
270	263.52	97.60		
270	264.06	97.80		
270	269.73	99.90		

0.008% D.008% D.003%。

3 讨论

顶空进样存在测定结果重复性较差的问题,特别是同一瓶样品连续进样时问题更明显,其原因是没有找到切实的平衡温度和时间。决定平衡温度和时间因素^[1]有很多,包括样品量、待测组分沸点、顶空瓶体积等,其中样品的种类与数量对那些在样品基质中溶解度大(分配系数大)的组分有很大影响,这也就是标准品不能仅用待测物的标准品配制且必须有与原样品相同或相似的基质的

原因,否则,定量误差将会很大。这两项参数对于最终进样气体的组分能否完全反映凝聚相(液相或固相)的组成至关重要。根据顶空进样的基本理论^[2]: $C_g = K' C_o$,其中 C_g 为气相中样品质量浓度, C_o 为凝聚相(液相或固相)样品初始质量浓度, K' 为平衡常数。只有在一定的平衡温度和时间下,达到气液平衡时,此公式才成立。因此在先后试验了多种平衡温度和时间后,确定平衡温度为 85 $^{\circ}\text{C}$,平衡时间为 30 min。在此条件下,样品峰面积比较稳定。

本试验主要考察了 100% 二甲基聚硅氧烷、5% - 二苯基 - 95% 二甲基聚硅氧烷及 DB-624 3 种非极性至中等极性的毛细管柱^[3],结果以 DB-624 毛细管柱的分离效果及灵敏度较高,因此选其作为本试验的色谱柱。

参考文献:

- [1] 秦立,胡昌勤,刘文英.顶空气相色谱法测定药品中残留溶剂的影响因素考察[J].药物分析杂志,2005,25(7):823.
- [2] 王永华,王保强.改变相比/顶空气相色谱法测定水中苯的分配常数及其含量[J].色谱,2003,21(6):614.
- [3] 高静,管斐,高申.避蚊胺乙基纤维素微球的制备及其性质考察[J].第二军医大学学报,2004,25(11):1235.

(收稿日期 2008-12-12,修回日期 2009-07-29)

和乙腈为色谱纯,水为纯净水,其他均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取工艺优选

2.1.1 因素水平确定

分别选择提取时间(因素A)、提取次数(因素B)、甲醇质量分数(因素C)3个考察因素,以芦丁含量为考察指标,每个因素分3个水平,因素水平表见表1。

表1 因素水平表

水平	因素 A(min)	因素 B(次)	因素 C(%)	因素 D(空白)
1	10	1	100	
2	20	2	85	
3	30	3	70	

2.1.2 正交试验与结果

用 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验,结果见表2。方差分析见表3,可见提取时间、提取次数、甲醇质量分数对提取的芦丁含量无影响。直观分析结果显示,最佳提取工艺条件为 $A_3B_3C_3$,即提取时间为超声30 min,提取次数3次,甲醇质量分数为70%。

表2 正交试验结果表

试验号	因素				芦丁含量 (%)
	A(min)	B(次)	C(%)	D(空白)	
1	1	1	1	1	0.082
2	1	2	2	2	0.139
3	1	3	3	3	0.153
4	2	1	2	3	0.117
5	2	2	3	1	0.162
6	2	3	1	2	0.095
7	3	1	3	2	0.141
8	3	2	1	3	0.103
9	3	3	2	1	0.174
I	0.125	0.120	0.093	0.139	
II	0.125	0.135	0.143	0.132	
III	0.146	0.141	0.159	0.124	
R	0.021	0.021	0.066	0.015	

表3 正交试验方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	F比	F值	P值
A	0.001	2	0.001	19.00	>0.05
B	0.001	2	0.001	19.00	>0.05
C	0.007	2	0.006	19.00	>0.05
误差	1.190	2			

注: $F_{0.05(2,2)} = 19.00$ 。

工艺验证结果见表4,表明优选的提取工艺对芦丁提取效果较好、工艺稳定。

试验号	称样量(g)	芦丁含量(%)
1	2.0821	0.169
2	2.0151	0.170
3	2.1026	0.172

2.2 芦丁含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-甲醇-0.4% 醋酸溶液(16:8:76); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 检测波长: 360 nm; 进样量: 10 μ L。理论塔板数按芦丁峰计应不低于2500。高效液相色谱图见图1。

2.2.2 溶液制备

精密称取芦丁对照品 11.46 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶

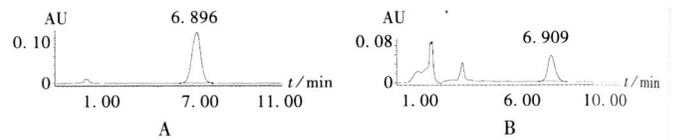


图1 高效液相色谱图

解至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液。取一枝黄花药材粉末(过三号筛)约2.0 g, 精密称定, 每次加溶剂15 mL, 按正交表进行超声试验, 最后加相应质量浓度的溶剂定容到50 mL量瓶中, 制得供试品溶液。

2.2.3 方法学考察

线性关系考察: 精密吸取对照品溶液, 分别进样6, 8, 10, 12, 14 μ L, 测定峰面积, 以芦丁质量浓度(μ g)为横坐标, 峰面积积分值(A)为纵坐标进行线性回归, 回归方程为 $Y = 3.0 \times 10^9 X - 125.3$, $r = 0.9995$ ($n = 5$)。结果表明芦丁进样量在0.6876 ~ 1.6044 μ g范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取对照品溶液, 依法测定。结果平均峰面积为1762972, $RSD = 1.3\%$ ($n = 5$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 同一供试品溶液, 分别于0, 4, 8, 16, 24 h时测定。结果平均峰面积为1759985, RSD 为1.2% ($n = 5$), 表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

重现性试验: 取样品粉末约2.0 g, 精密称定, 依法制备供试品溶液并测定。结果平均峰面积为1765923, 平均含量为0.171%, $RSD = 1.0\%$ ($n = 5$), 表明方法重现性良好。

加样回收试验: 取已知含量(0.169%)的样品6份, 每份约为1.0 g, 精密称定, 精密加入芦丁对照品溶液(1.76 mg/mL) 1.0, 1.2, 1.4 mL, 置50 mL量瓶中, 加相应溶剂至刻度, 依法测定含量, 计算回收率, 结果见表5。

表5 芦丁加样回收试验结果($n = 6$)

样品量 (g)	样品含量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
1.123	0.380	0.352	0.729	99.15		
1.089	0.368	0.352	0.714	98.30		
1.135	0.384	0.422	0.802	99.05		
1.064	0.360	0.422	0.780	99.53	99.27	0.69
1.126	0.381	0.493	0.870	99.19		
1.101	0.372	0.493	0.867	100.41		

2.2.4 含量测定

分别依法测定3批样品结果平均含量为0.173%。

3 讨论

一支黄花的有效成分芦丁可用甲醇或乙醇提取。为选择适合溶剂, 以甲醇和乙醇为溶剂, 以不同质量分数进行超声提取, 结果以甲醇为溶剂的芦丁提取率明显高于以乙醇为溶剂, 故本试验选择甲醇为提取溶剂。

优选的提取工艺可行、稳定。HPLC法简便、灵敏、准确, 可对一枝黄花的开发利用及质量控制提供了一定的参考。

作者简介: 冯华, 男, 硕士研究生, 主要从事药品检验及新药研究(电话)0852-8928059(电子信箱)fenghua781014@yahoo.com.cn。

参考文献:

[1] DB52/YC001-2003, 贵州省中药材、民族药材质量标准[S].

(收稿日期 2009-03-03, 修回日期 2009-06-28)