

## 虎杖乙醇渗漉液中总蒽醌含量的实验研究

王京霞, 许家鸾(浙江省中医院, 浙江 杭州 310006)

**摘要:**目的 确定虎杖乙醇渗漉液中以大黄素为标准的总蒽醌含量的最佳提取条件。方法 采用  $L_9(3^4)$  正交设计, 以大黄素为标准, 以分光光度法对虎杖乙醇渗漉液中总蒽醌进行实验研究。结果 最佳提取条件为  $A_3B_3C_1D_2$  即用 30 倍量 70% 乙醇渗漉二次每次 2h。结论 本实验结果可靠, 方法简便, 最佳提取条件适合批量生产中该药材的提取。

**关键词:**虎杖乙醇渗漉液; 大黄素; 正交试验; 实验研究

中图分类号: R284; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2004)04-0284-02

### Experimental study on the manufacture procedure of Rhizoma Polygoni cuspidati ethanol extraction

WANG Jing-xia, XU Jia-luan(*Zhejiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To confirm the best procedure for Rhizoma Polygoni cuspidati ethanol extraction. **METHOD** The procedure was optimized by orthogonal test. **RESULTS** The best condition for procedure was to apply 70% ethanol, thirty times of the weight of original material, extraction two time and each extraction times was 2h. **CONCLUSION** The result is credible, the method is simple. It can be used for batch production.

**KEY WORDS:** Rhizoma Polygoni cuspidati ethanol extraction; emodin; orthogonal test; experimental study

虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根, 具有祛风利湿, 散瘀定痛, 止咳化痰的功效, 用于关节痹痛, 湿热黄疸, 经闭, 症瘕, 水火烫伤, 跌扑损伤, 痈肿疮毒, 咳嗽痰多。虎杖中含蒽醌类化合物, 选择以大黄素为标准的总蒽醌含量及乙醇渗漉液的总固体量为指标进行正交设计试验, 按主次指标进行评价, 找出了最佳制备条件。

#### 1 材料

##### 1.1 仪器

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司) KQ3200 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

##### 1.2 试剂和药材

大黄素(中国药品生物制品检定所, 批号: 0756-200110, 供含量测定用), 其它试剂均为分析纯。实验药材购自本院中药房, 由我院中药房主任药师徐锡山鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根。

#### 2 方法与结果

##### 2.1 正交表的设计

根据虎杖中含有蒽醌类化合物, 选择乙醇渗漉法。根据药材渗漉过程中存在的诸多因素, 考虑乙醇浓度(A)、乙醇体积(B)、渗漉时间(C)、渗漉次数(D)等设计了因素水平表见表 1,  $L_9(3^4)$  正交试验表见表 2。

表 1 虎杖乙醇渗漉液提取工艺因素水平表

Tab 1 The factor-level table of Rhizoma Polygoni cuspidati manufacture procedure

水平	A (乙醇浓度 %)	B (乙醇体积: 倍)	C (渗漉时间: (渗漉次数: h)	D (次)
1	50	10	2	1
2	60	20	4	2
3	70	30	6	3

##### 2.2 样品制备

称取相同量的 9 份干燥药材按表 2 分别加乙醇渗漉, 收集渗漉液, 适当回收乙醇, 调整总量使每毫升相当于 0.02g 生药, 制得 9 个样品。

##### 2.3 指标测定

2.3.1 乙醇浸出物测定, 精密量取样品液 20 mL, 于水浴上蒸干, 按中国药典 2000 年版一部附录方法烘干至恒重, 于天平上称量, 计算总固体量, 结果见表 2。

2.3.2 以大黄素为标准的总蒽醌含量测定方法: 1. 对照液的制备及标准曲线的绘制: 取大黄素对照品约 10 mg, 精密称定置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 中含大黄素 0.1 mg)。精密量取对照品液 1, 2, 3, 5, 10, 15 mL 挥去甲醇, 蒸干, 残渣分别加入 2% 氨溶液与 5% NaOH 溶液的等量混合溶液 20 mL 使溶解, 用三号垂熔漏斗滤过, 取续滤液以试剂为空白, 照分光光度法(中国药典 2000 年版附录 VB)

在 520nm 波长处分别测定吸光度,以吸光度为横坐标,大黄素含量为纵坐标得标准曲线方程为:  $Y = -0.072 + 1.731 X$  ( $r = 0.9995$ )。2. 样品分析:取渗漉液 10 mL 于 105 °C 干燥至恒重,精密称定,用适量甲醇转移至 100 mL 量瓶中,加甲醇约 90 mL,超声处理(功率 250 W,频率 30kHz) 30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,置 100 mL 圆底烧瓶中,挥去甲醇,加 2.5 mol/L 硫酸溶液 20 mL,加热回流 1 h,稍冷,加氯仿约 30 mL,继续回流 2 h,冷却,移置分液漏斗中,用少量氯仿洗涤容器,洗液并入分液漏斗中,分取氯仿层置 50 mL 量瓶中,酸液用氯仿提取 2 次,每次约 8 mL,氯仿液并入 50 mL 量瓶中加入氯仿至刻度,摇匀即得样品溶液。精密量取样品溶液 10 mL 按“2.3.2.1”同法测定吸光度,计算结果见表 2。

表 2  $L_9(3^4)$  正交试验表及结果

Tab 2 The  $L_9(3^4)$  orthogonal test table and the results

实验号	A	B	C	D	总固体物(克)	总蒽醌(mg)
1	1	1	1	1	0.019	0.03048
2	1	2	2	2	0.028	0.09452
3	1	3	3	3	0.027	0.1241
4	2	1	2	3	0.029	0.1165
5	2	2	3	1	0.031	0.1563
6	2	3	1	2	0.034	0.3024
7	3	1	3	2	0.041	0.2166
8	3	2	1	3	0.035	0.3568
9	3	3	2	1	0.043	0.2896

## 2.4 结果分析

按主次指标,分别将总蒽醌含量及乙醇渗漉液总固体物进行方差分析和极差分析结果见表 3,表 4,表 5。根据主要指标的极差大小顺序及方差分析结果,认定各因素主次顺序为 A→B→C→D,最佳工艺为  $A_3B_3C_1D_2$  即用 30 倍量 70%乙醇渗漉二次每次 2h。为了验证上述结果准确性,重复最佳条件,得到乙醇浸出物总固体量为 0.31g,总蒽醌含量为 0.3301 mg 与正交表中 9 个实验结果中总蒽醌含量最高的样品基本一致。所以确定工艺为:  $A_3B_3C_1D_2$  即用 30 倍量 70%乙醇渗漉二次每次 2h。

表 3 以大黄素为标准的总蒽醌极差分析结果

Tab 3 The range results according to anthraquinone content

	A	B	C	D
$K_1$	0.2491	0.3636	0.6897	0.4764
$K_2$	0.5752	0.6076	0.5006	0.6135
$K_3$	0.863	0.7161	0.497	0.5974
$R_j$	0.6139	0.3525	0.1927	0.1371

表 4 乙醇渗漉液总固体物极差分析结果

Tab 4 The range results according to the total solid

	A	B	C	D
$K_1$	0.074	0.089	0.088	0.093
$K_2$	0.094	0.094	0.1	0.103
$K_3$	0.119	0.104	0.099	0.091
$R_j$	0.045	0.015	0.012	0.012

表 5 以大黄素为标准的总蒽醌含量的方差分析结果

Tab 5 The variance analysis results according to anthraquinone content

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.06292	2	0.03146	16.6	不显著
B	0.02177	2	0.01088	5.76	不显著
C	0.008133	2	0.004067	2.21	不显著
D	0.003775	2	0.001888	*	不显著

注:查 F 值表  $F_{0.05(2,2)} = 19$ ,  $F_{0.01(2,2)} = 99$

Note: From F table,  $F_{0.05(2,2)} = 19$ ,  $F_{0.01(2,2)} = 99$

因为大黄素测定没设空白列,又没有进行重复试验,故只能取方差最小的 D 列作为误差 E,从而求得 F 值。

## 3 讨论

由总蒽醌为指标得出最佳工艺条件为  $A_3B_3C_1D_2$ ,由乙醇渗漉液固体物含量得出最佳工艺条件为  $A_3B_3C_2D_2$ 。根据实际渗漉时间,确定为  $A_3B_3C_1D_2$ 。又重复此条件总蒽醌含量为最高,故确定最佳条件  $A_3B_3C_1D_2$  即:70%乙醇 30 倍量渗漉 2 次,每次 2h。按此条件操作,提取条件合理且适合批量生产中该药材的提取。

每次试验中其它因素如药材粉碎度,润湿程度,计时方法及其它操作均统一,以减少操作误差。

## 参考文献

- [1] 中国药典.2000 年版一部[S].2000:167.
- [2] 张春华 周永治 刘延福.数理统计方法[M].济南:山东大学出版社,1995,4.