

而更利于临床应用。

本研究结果显示,当当归配比含量不变时,逐渐增加黄芪的含量可使黄芪甲苷、阿魏酸、芒柄花素含量逐渐上升,而最高值在1:5的配比时出现。其原因主要考虑黄芪用量增加后,当归对黄芪的拮抗作用降低^[6]。另外,虽然当归内阿魏酸易受温度影响(温度变高后,氧化分解加快),但黄芪内黄酮类成分对阿魏酸的保护作用,充分缓解了氧化分解的进程^[7]。本研究结果还显示,配比为1:7或1:10时,3种化学成分含量均降低。由此可见,当归与黄芪的配比方式为1:5时,可确保3种化学成分的最优有效浓度,而配比超过1:7时,则2种化学成分的含量呈下降趋势。

综上所述,本研究为临床应用当归补血汤提供了实验数据,当当归与黄芪配比为1:5时,可保证配方药效充分发挥,需引起临床重视。

[参考文献]

[1] 刘浩文,刘嘉仪,杨妙荣,等.黄芪药材中黄芪甲苷含

量测定的两种方法的比较研究[J].中药新药与临床药理,2011,22(6):659-662.

- [2] 欧仕益,包惠燕,蓝志东,等.阿魏酸及其衍生物的药理作用研究进展[J].中药材,2001,24(3):220-221.
- [3] 石子仪,鲍忠,姜勇,等.不同来源黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芒柄花素的定量分析[J].中国中药杂志,2007,32(9):779-783.
- [4] 李曦,张丽宏,王晓晓,等.当归化学成分及药理作用研究进展[J].中药材,2013,36(6):1023-1028.
- [5] 左军,张文钊,胡晓阳,等.黄芪现代药理及临床研究进展[J].中医药信息,2014,31(1):111-112.
- [6] 周向明,周昕,李毅民,等.当归补血汤的研究进展[J].世界中医药,2013,8(6):705-707.
- [7] 田汉英,国旭丹,李五霞,等.不同处理温度对苦荞抗氧化成分的含量及其抗氧化活性影响的研究[J].中国粮油学报,2014,29(11):19-23,50.

(责任编辑:吴凌,刘迪成)

火炭母中黄酮提取工艺的优选

伍世恒¹,金晶²

1. 广东省中医院药学部,广东 广州 510120; 2. 中山大学药学院,广东 广州 510006

[摘要] 目的:优选火炭母中黄酮的提取工艺。方法:以槲皮素、槲皮苷和总黄酮的得率为指标,采用正交试验法考察乙醇百分数、料液比、提取时间和提取次数4个影响因素,优选火炭母中黄酮的超声提取工艺。结果:超声提取液中黄酮含量高于回流提取液,其最佳的提取条件为乙醇体积分数85%,料液比1:15,提取时间为30 min,提取次数3次。结论:该工艺简单可行,成本低廉,安全可靠,为火炭母中黄酮成分工业化生产提供了理论依据。

[关键词] 火炭母;槲皮素;槲皮苷;总黄酮;超声提取法;正交设计

[中图分类号] R284.2 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415(2016)06-0276-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.06.121

火炭母为蓼科植物火炭母(*Polygonum chinense* L.)或粗毛火炭母(*Polygonum chinense* L. var. *hispidum* Hook. f.)的干燥全草^[1]。在广东地区应用广泛,具有清热利湿、凉血解毒、平肝明目、活血舒筋等功效,为岭南习用中药。现代药理研究表明,火炭母具有抗炎,抗病毒、减压及抑制中枢神经的作用,治疗肠炎有较好的疗效^[2]。火炭母主要化学成分为黄酮类、鞣质类、甾醇类,其中黄酮类是其主要有效成分,主要包

括槲皮素及其苷类化合物^[1]。火炭母的资源丰富,生长周期短,产量较大,开发为成药或保健品具有一定的经济价值,而目前尚无火炭母的提取工艺的文献报道。超声波提取技术是利用超声波所产生的强烈机械振动及空化效应等作用,从而达到缩短提取时间,提高提取效率的目的。与传统方法相比,超声提取法溶剂用量较少,提取时间较短,并且有效物质不被破坏^[3]。本实验采用正交试验对其主要的影响因素进行考

[收稿日期] 2015-12-05

[作者简介] 伍世恒(1980-),男,主管药师,研究方向:医院药学与药物制剂。

[通讯作者] 金晶, E-mail: ilpf99@163.com。

察,多指标评价火炭母中黄酮的超声提取工艺,为其工业化生产提供一定的参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Agilent-1100 高效液相色谱仪(DAD 检测器、自动进样器、在线脱气、四元泵)(美国安捷伦科技有限公司)、KQ-300VDB 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)、BS210S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 材料 槲皮素(批号:111893-200905)、槲皮苷(批号:110139-200903)、芦丁(批号:100080-200906)等对照品均购于中国药品生物制品检定所,火炭母(批号:201206232)药材由康美药业股份有限公司提供,经广州中医药大学中药鉴定教研室鉴定为蓼科植物火炭母 *Polygonum chinense* L. 的干燥全草;乙腈、甲醇(美国 Burdick & Jackson 公司)为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 提取工艺的设计 超声提取工艺:实验采用正交试验对火炭母中黄酮提取工艺中4个因素:乙醇百分数、料液比、提取时间、提取次数进行考察,每个因素选择3个水平。称取干燥火炭母药材粉末(过3号筛)10g,加入到500mL具塞的锥形瓶中,按照 $L_9(3^4)$ 正交表(表1)的试验顺序进行操作,超声处理的功率为250W,频率为40kHz,提取温度为35℃。采用综合加权评分法,以槲皮素、槲皮苷和总黄酮的含量作为评价指标,各指标进行“隶属度”的计算,其指标隶属度=(测定值-最小测定值)/(最大测定值-最小测定值), $0 \leq$ 指标隶属度 ≤ 1 。其具体的权重为:总黄酮得率占50%,槲皮素得率占25%,槲皮苷得率占25%。综合评分=总黄酮得率隶属度 \times 50%+槲皮苷得率隶属度 \times 25%+槲皮素得率隶属度 \times 25%,满分为1.00。回流提取工艺:精密称定火炭母药材粉末(过3号筛)10g,置于500mL回流装置中,加入95%乙醇200mL水浴回流2h,滤过,滤渣再加入95%乙醇100mL加热回流1h,滤过,合并2次滤液,95%乙醇定容至500mL,摇匀,即得供试品溶液。

表1 $L_9(3^4)$ 正交表

水平	因素			
	乙醇百分数(A)	料液比(B)	提取时间(C)	提取次数(D)
1	75%	1:10	20 min	1
2	85%	1:15	25 min	2
3	95%	1:20	30 min	3

2.2 含量测定

2.2.1 总黄酮的含量测定^[4]

2.2.1.1 供试品溶液的制备 按照2.1项方法进行提取,得到提取液,滤过,用少量95%乙醇洗涤滤渣,合并滤液,95%乙醇定容至500mL,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.1.2 标准曲线的测定 精密称定芦丁对照品5.44mg,置

25mL量瓶中,加95%乙醇至刻度,摇匀,即得0.2176mg/mL的对照品溶液。取对照品溶液0、1、2、4、6、8mL分别置25mL容量瓶中,加95%乙醇至8mL,再加入1mL亚硝酸钠溶液(50g/L),摇匀,放置5min,加入1mL硝酸铝溶液(100g/L),摇匀,放置6min,加入10mL氢氧化钠溶液(40g/L)用蒸馏水定容至刻度,摇匀,放置15min显色,以0管为空白,在500nm波长处测定吸光度,以吸光度A为纵坐标、浓度C(mg/mL)为横坐标绘制标准曲线。得标准曲线方程为: $A=13.65C-0.0045$ ($r=0.9999$),对照品溶液在0.008704~0.069632mg/mL范围内线性关系良好。

2.2.1.3 精密度的考察 精密移取芦丁对照品1mL,平行操作5次,按照2.2.1.2项下自“置25mL容量瓶中”起进行操作,测定其吸光度A,计算器RSD%($n=5$)值。结果RSD%=0.12%。

2.2.1.4 含量测定 按照2.2.1.1项供试品制备方法进行提取,每份精密吸取2.0mL,按照标准曲线下步骤进行操作,测定其吸收度,计算含量,结果见表2。

2.2.2 槲皮素与槲皮苷含量测定^[5]

2.2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Extend C_{18} (250mm \times 4.6mm 5 μ m);流动相:甲醇-乙腈-0.2%磷酸水溶液(38:10:52);流速:1.0mL/min;柱温:25℃;检测波长:254nm;进样量为10 μ L。

2.2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取槲皮苷和槲皮素对照品适量,置10mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制得0.045mg/mL槲皮苷和0.032mg/mL槲皮苷的对照品混合溶液,过0.45 μ m微孔滤膜,即得。

2.2.2.3 供试品溶液制备 按照2.1项方法进行提取,得到提取液,滤过,用少量95%乙醇洗涤滤渣,合并滤液,95%乙醇定容至500mL,摇匀,精密移取该溶液10mL,水浴挥干,残渣用甲醇溶解并定容至5mL,摇匀,过0.45 μ m微孔滤膜,即得。

2.2.2.4 标准曲线的制备 分别精密吸取混合对照品溶液1、5、10、15、20 μ L,按照2.2.2.1项下色谱条件,测定槲皮苷和槲皮素的峰面积,以峰面积Y为纵坐标,进样量(μ g)为横坐标绘制标准曲线,得到槲皮苷和槲皮素回归方程分别为: $Y=2710.17X-4.2126$ ($R^2=0.9996$)和 $Y=3981.36X-1.4632$ ($R^2=0.9997$);线性范围分别为:0.045~0.9 μ g和0.032~0.64 μ g。

2.2.2.5 含量测定 按照上述2.2.2项下的含量测定方法,测定火炭母不同提取液样品中槲皮苷和槲皮素的含量。结果见表2、图1。

结果表明,影响火炭母中黄酮提取工艺程度依次为:D(提取次数)>C(提取时间)>B(料液比)>A(乙醇百分数),方差分析结果表明,D因素对火炭母提取工艺有明显的影响($P < 0.05$),因素A、B、C均没有明显的差异,为了节省溶剂,经综合考虑,得出最佳的提取工艺为: $A_2B_2C_3D_3$:即乙醇体积分数

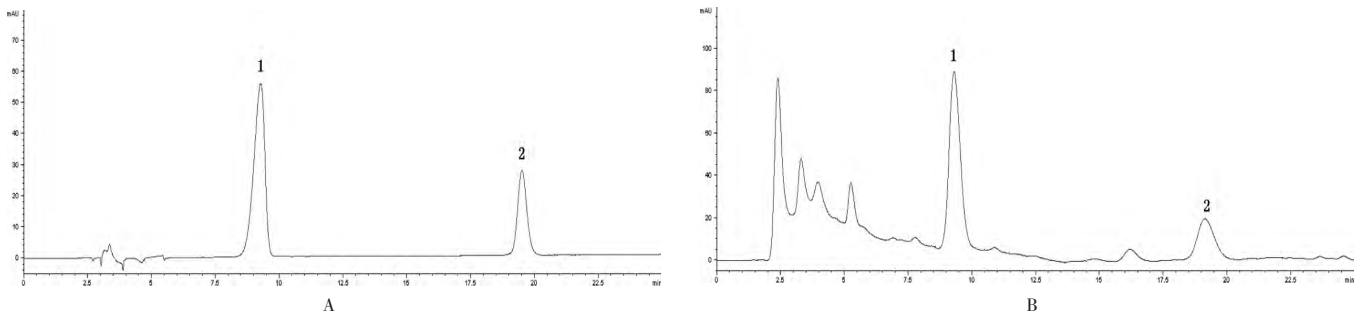
85%，料液比 1：15，提取时间为 30 min，提取 3 次。

2.3 工艺验证与比较 见表 3。采用上述含量测定方法测定火炭母最佳提取液和回流提取液中 3 种成分含量。表 3 结果

表明，超声提取液中总黄酮、槲皮苷和槲皮素等 3 种成分含量均高于回流提取液，说明该工艺具有一定科学性，验证结果也表明，该工艺具有一定的稳定性。

表 2 火炭母提取工艺的正交设计实验结果

序号	乙醇百分数(A)	料液比(B)	提取时间(C)	提取次数(D)	总黄酮(%)	槲皮苷(mg/g)	槲皮素(mg/g)	综合评分
1	1	1	1	1	2.07	1.1208	0.4612	0
2	1	2	2	2	2.48	1.5243	0.5443	0.7462
3	1	3	3	3	2.64	1.5912	0.5819	1
4	2	1	2	3	2.51	1.1555	0.5523	0.8057
5	2	2	3	1	2.35	1.3625	0.4888	0.4312
6	2	3	1	2	2.45	1.5218	0.5413	0.7124
7	3	1	3	2	2.43	1.5295	0.5477	0.7122
8	3	2	1	3	2.49	1.5418	0.5512	0.7786
9	3	3	2	1	2.29	1.3406	0.4832	0.3554
K_1	0.5821	0.5060	0.4970	0.2622				
K_2	0.6498	0.6520	0.6358	0.7236				
K_3	0.6154	0.6892	0.7145	0.8614				
R	0.0677	0.1833	0.2175	0.5992				



A. 混合对照品；B. 火炭母提取液；1. 槲皮苷；2. 槲皮素

图 1 火炭母提取工艺含量测定 HPLC 图

表 3 火炭母最佳提取工艺验证与比较的结果

提取方法	NO	总黄酮含量 (%)	槲皮苷含量 (mg/g)	槲皮素含量 (mg/g)
超声提取法	1	2.61	1.5815	0.5348
	2	2.69	1.5808	0.5325
	3	2.68	1.5827	0.5310
	4	2.65	1.5943	0.5422
	5	2.63	1.5906	0.5389
回流提取法	1	2.32	1.2824	0.4942
	2	2.29	1.2809	0.4983
	3	2.36	1.3318	0.5004
	4	2.22	1.2573	0.5054
	5	2.39	1.3105	0.5177

3 讨论

文献报道表明，总黄酮、槲皮素和槲皮苷常作为其质量控

制的指标。目前，同时测定火炭母中槲皮素和槲皮苷的高效液相含量测定方法尚未见报道，本实验对色谱柱、流动相、检测波长、流速等色谱条件进行考察与优化，建立了火炭母槲皮苷和槲皮素高效液相含量测定方法，为其质量标准的建立与提高提供一定方法学依据。

研究表明，温度对超声提取工艺具有一定的影响，合适的提取温度能提高黄酮类成分的溶解率，但不宜过高，避免提取溶剂挥发。实验对提取温度进行了单因素考察，比较 25℃、30℃、35℃、40℃ 等 4 个温度的黄酮提取率，结果表明，随着温度提高，黄酮类成分的提取率逐渐升高，35℃ 与 40℃ 提取率差别不大，因此选择 35℃ 进行超声提取。实验优选出火炭母的黄酮超声提取工艺，该工艺中总黄酮、槲皮素和槲皮苷等 3 种成分的提取率均高于回流提取工艺，且工艺操作简单、省时、成本低廉，稳定性好，应用于工业化生产将产生一定的经济效益，为该药材综合利用开发提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 朱华, 高雅, 张可锋, 等. 不同产地火炭母中槲皮素的含量测定方法研究[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(6): 557- 559.
- [2] 王金香. 火炭母药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 96- 98.
- [3] 周伟, 邵荣, 吴俊, 等. 蒲公英黄酮的超声辅助提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(5): 2696- 2698.
- [4] 韦玉, 高雅, 张可锋. 不同产地火炭母总黄酮含量测定[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(6): 3265- 3266.
- [5] 吴怀恩, 甄汉深, 韦志英, 等. 侧柏叶不同炮制品中槲皮苷与槲皮素的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 354- 356.

(责任编辑: 马力)

胃舒汤对实验性胃溃疡大鼠的治疗作用及其对 NF- κ B 信号通路的影响

赖日明, 刘越滇, 聂旭检, 倪文颖

广州市增城区中医院, 广东 广州 510000

[摘要] 目的: 通过观察胃舒汤对实验性胃溃疡大鼠胃组织病理及胃组织白介素-2 (IL-2), 核转录因子 (NF- κ B) p65 蛋白表达水平的影响, 探讨其作用机制。方法: 48 只清洁级 Wistar 大鼠成功造模后, 根据完全随机数字表法随机分为正常组、模型组、奥美拉唑组、胃舒汤组。自造模后第 3 天, 正常组和模型组给予生理盐水, 奥美拉唑组、胃舒汤组分别给予奥美拉唑胶囊溶液、胃舒汤水煎液灌胃, 每天 1 次, 连续灌胃 13 天。观察用药过程中各组大鼠一般状态、胃大体形态学和组织病理学, 比较各组的胃组织病理指数, 测定并比较各组胃组织 IL-2、NF- κ Bp65 蛋白的表达水平。结果: 胃舒汤组和奥美拉唑组大鼠饮食、活动量、被毛等一般状态优于模型组, 且体重增长速度明显大于模型组, 尤以胃舒汤组更为明显。胃舒汤组和奥美拉唑组溃疡指数明显低于模型组 ($P < 0.01$), 且胃舒汤组溃疡指数明显低于奥美拉唑组 ($P < 0.01$)。模型组胃组织 IL-2 水平及 NF- κ Bp65 蛋白表达水平显著高于正常组 ($P < 0.01$), 奥美拉唑组及胃舒汤组 IL-2 水平及 NF- κ Bp65 水平均显著低于模型组, 且胃舒汤组的 IL-2 及 NF- κ Bp65 水平更低于奥美拉唑组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 胃舒汤对实验性胃溃疡大鼠具有较好的治疗作用, 其作用机制可能与通过抑制 NF- κ B 的活化及表达, 减少炎症因子的释放有关。

[关键词] 胃溃疡; 白介素-2 (IL-2); 核转录因子- κ B (NF- κ B); 胃舒汤

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2016) 06-0279-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.06.122

Therapeutic Effect of Weishu Tang on the Mice with Experimental Gastric Ulcer and Its Impact on NF- κ B Signal Path

LAI Riming, LIU Yuedian, NIE Xujian, NI Wenyong

Abstract: Objective: To observe the curative effect of Weishu tang on stomach tissue pathology, and the expression levels of interleukin-2 (IL-2) and Nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65) of mice with experimental gastric ulcer, and discuss its mechanism of action. Methods: After successfully molding, forty-eight clean Wistar mice were divided into normal group, model group, omeprazole group and Weishu tang group, according to the completely random number table. The third day after molding, mice in normal group and model group were given the normal saline, while mice in omeprazole group and Weishu tang group were respectively given omeprazole capsules solution and Weishu tang by gavage one time per day

[收稿日期] 2015-12-30

[作者简介] 赖日明 (1963-), 男, 副主任药师, 研究方向: 中药药理与药事管理研究。