

# 维药恰玛古中硫代葡萄糖苷的提取工艺研究<sup>△</sup>

张涛<sup>1\*</sup>, 安熙强<sup>1#</sup>, 黄莉<sup>2</sup>, 胡旭<sup>1</sup>, 程江南<sup>1</sup>, 赵婷婷<sup>1</sup>, 马媛<sup>1</sup>, 张娟<sup>1</sup>(1.新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004; 2.新疆维吾尔自治区第二济困医院, 乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)25-3548-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.25.31

**摘要** 目的: 优化维药恰玛古硫代葡萄糖苷的提取工艺。方法: 采用乙醇回流法提取维药恰玛古中硫代葡萄糖苷, 以硫代葡萄糖苷提取量和干膏得率的综合评分为指标, 在单因素试验基础上采用 $L_9(3^1)$ 正交试验考察乙醇体积分数、提取时间、料液比对恰玛古硫代葡萄糖苷提取工艺的影响并进行验证试验。结果: 优化的提取工艺为加8倍药材量的95%乙醇回流提取2次, 每次1.0 h; 硫代葡萄糖苷提取量和干膏得率分别平均为7.36 mg/g、25.29%, 综合评分的RSD为0.52% ( $n=3$ )。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 可用于维药恰玛古中硫代葡萄糖苷的提取。

**关键词** 恰玛古; 硫代葡萄糖苷; 单因素试验; 正交试验; 提取工艺; 优化

## Research on the Extraction Technology of Glucosinolates from Uighur Medicine *Brassica rapa* L.

ZHANG Tao<sup>1</sup>, AN Xi-qiang<sup>1</sup>, HUANG Li<sup>2</sup>, HU Xu<sup>1</sup>, CHENG Jiang-nan<sup>1</sup>, ZHAO Ting-ting<sup>1</sup>, MA Yuan<sup>1</sup>, ZHANG Juan<sup>1</sup>(1.Xinjiang Institute of Meteria Medica, Urumqi 830004, China; 2.The Second Aid Hospital of Xinjiang, Urumqi 830011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of glucosinolates from Uighur medicine *Brassica rapa* L.. METHODS: Ethanol refluxing method was adopted to extract glucosinolates from Uighur medicine *B. rapa* L.. With the comprehensive score of glucosinolates and dry extract yield as the index,  $L_9(3^1)$  orthogonal test based on the single factor test was adopted to observe the effects of ethanol volume fraction, extraction time and material-liquid ratio on the extraction technology of glucosinolates from *B. rapa* L., and verification test was conducted. RESULTS: The optimal extraction technology was to add 95% ethanol 8 times as much as the amount of the herbs, twice for 1.0 h reflux extractions. The extraction amount of glucosinolates and dry extract yield were 7.36 mg/g and 25.29% at average, respectively. The comprehensive score of RSD was 0.52% ( $n=3$ ). CONCLUSIONS: The optimal extraction technology is stable and feasible and can be used for the extraction of glucosinolates from *B. rapa* L..

**KEYWORDS** *Brassica rapa* L.; Glucosinolates; Single factor test; Orthogonal test; Extraction technology; Optimization

恰玛古, 拉丁文名 *Brassica rapa* L., 为十字花科芸苔属芜菁亚种, 二年生草本植物, 常用种子和根入药。恰玛古是受新疆维吾尔族喜爱的并有较长应用历史的传统药用植物<sup>[1-3]</sup>, 载于《中华人民共和国卫生部药品标准-维吾尔药分册》中<sup>[4]</sup>。其主产于中国新疆天山西南、塔里木西北地区, 其中新疆阿克苏柯坪县作为该物种的主产地, 已获得国家地理标志认证。

硫代葡萄糖苷是广泛存在于十字花科植物中的含硫次级代谢产物, 到目前已发现有近120种。硫代葡萄糖苷在芥子酶或胃肠道中细菌酶的催化作用下, 会发生降解并生成多种降解产物。研究发现硫代葡萄糖苷的降解产物异硫代氰酸盐具有抗肿瘤作用<sup>[5-7]</sup>。根据文献报道, 十字花科芸苔属植物根系中的硫代葡萄糖苷以芳香族为主, 主要是苯甲基硫代葡萄糖苷、*p*-羟苯基甲基硫代葡萄糖苷和2-苯乙基硫代葡萄糖苷<sup>[8]</sup>。因此, 本研究选择苯甲基硫代葡萄糖苷为对照品, 以硫代葡萄糖苷提取量和干膏得率为综合评价指标, 通过单因素试验筛

选提取方法(乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取次数), 利用正交试验考察乙醇体积分数、料液比、提取时间对恰玛古中硫代葡萄糖苷提取工艺的影响, 并采用经方法学验证后的紫外分光光度法测定硫代葡萄糖苷含量, 为恰玛古中硫代葡萄糖苷的充分利用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

UV765型紫外分光光度计(上海精科有限公司); ML204型电子天平、AB135-S型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)。

### 1.2 药品、药材与试剂

苯甲基硫代葡萄糖苷对照品(美国Chroma Dex公司, 批号: 00007300-704, 纯度: 99.3%); 恰玛古(新疆柯坪县圣泉实业有限公司, 批号: 141028, 经新疆维吾尔自治区药物研究所杨伟俊研究员鉴定为十字花科芸苔属芜菁亚种恰玛古的肉质根); 水为双蒸水, 试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 硫代葡萄糖苷含量测定<sup>[9-10]</sup>

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取苯甲基硫代葡萄糖苷对照品35.50 mg, 置于25 ml量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为1.41 mg/ml的苯甲基硫代葡萄糖苷对照品

<sup>△</sup> 基金项目: 新疆维吾尔自治区中医民族医药管理局中医民族医药青年科技人才专项课题(No.2013ZMY03)

\* 助理研究员, 硕士。研究方向: 中药及功能食品开发。电话: 0991-2320293。E-mail: zt\_521@hotmail.com

# 通信作者: 研究员。研究方向: 中药及功能食品开发。电话: 0991-2812073。E-mail: axq0991@sina.com

溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取恰玛古药材粗粉 5 g 至烧瓶中,加 8 倍量 85% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并滤液至 100 ml 量瓶中,用 85% 乙醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 检测波长的选择 精密吸取对照品溶液和供试品溶液 2 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,加入 0.1% 羧甲基纤维素钠 4 ml,摇匀后再加入 0.71 g/L 氯化钡 2 ml,摇匀,室温显色 1 h。对照管以相应试剂为空白。于 400~700 nm 波长扫描,结果显示,二者均在 520 nm 波长处有最大吸收。

2.1.4 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5、6 ml 置于 10 ml 量瓶中,按“2.1.3”项下方法测定吸光度(A),以 A 为纵坐标、对照品溶液质量浓度(c)为横坐标,得回归方程  $A = 1.0198c - 0.0499$  ( $r = 0.9999$ ,  $n = 6$ ),表明苯甲基硫代葡萄糖苷线性范围为 0.141~0.846 mg/ml。

2.1.5 重复性试验 精密称取恰玛古药材粗粉 5 g,共 6 份,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下方法测定 A,计算吸光度的 RSD 为 0.94% ( $n = 6$ ),表明本法重复性良好。

2.1.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 3 ml,共 5 份,按“2.1.3”项下方法测定 A,计算吸光度的 RSD 为 0.27% ( $n = 5$ ),表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 2 ml,分别于 1、2、3、4、5、6 h 按“2.1.3”项下方法测定 A,计算硫代葡萄糖苷含量的 RSD 为 2.78% ( $n = 6$ )。结果表明,供试品溶液在 6 h 内可保持相对稳定,但在 4 h 后测定值明显降低。因此,测定恰玛古中的硫代葡萄糖苷含量时,要求在 4 h 以内完成,以保证试验结果的准确。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的恰玛古药材粗粉 9 份,平均分为 3 组,按高、中、低 3 个水平依次精确地加入一定量苯甲基硫代葡萄糖苷对照品溶液,然后按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下方法测定 A,计算平均加样回收率为 98.96%,RSD 为 1.20% ( $n = 3$ )。

## 2.2 综合评分计算

以硫代葡萄糖苷提取量和干膏得率进行综合评分,硫代葡萄糖苷提取量(mg/g) = 提取液中硫代葡萄糖苷质量浓度 × 定容体积/原药材的质量;干膏得率(%) = 干膏质量/原药材的质量 × 100%,综合评分 = (硫代葡萄糖苷提取量/硫代葡萄糖苷提取量最大值) × 80 + (干膏得率/干膏得率最大值) × 20。

## 2.3 单因素试验考察

根据硫代葡萄糖苷的理化性质,以及醇提工艺的主要影响因素,选取乙醇体积分数(%)、料液比、提取时间(h)、提取次数作为考察因素。

2.3.1 乙醇体积分数 精密称取恰玛古药材粗粉 25 g,共 5 份,分别加入 8 倍量 95%、85%、75%、65%、55% 的乙醇溶液加热回流提取 2 次,每次 1 h,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,依法测定。计算得各提取液中硫代葡萄糖苷提取量分别为 7.26、6.48、6.17、5.87、5.47 mg/g,干膏得率分别为 25.17%、23.36%、23.19%、18.49%、18.25%。综合评分结果见图 1。

由图 1 可见,随着乙醇体积分数的降低,综合评分逐渐降低,表明 95% 乙醇的提取效果最好。故选择 95%、85% 和 75% 乙醇进一步进行正交试验。

2.3.2 料液比 精密称取恰玛古药材粗粉 25 g,共 5 份,分别加入 6、8、10、12、14 倍量 95% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 1

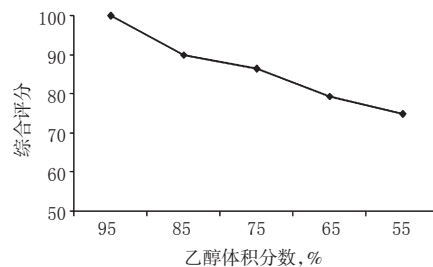


图 1 乙醇体积分数对综合评分的影响

Fig 1 The effects of ethanol volume fraction on the comprehensive score

h,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,依法测定。计算得各提取液中硫代葡萄糖苷提取量分别为 6.65、7.31、7.34、7.59、7.65 mg/g,干膏得率分别为 19.88%、24.77%、25.81%、27.48%、27.82%。综合评分结果见图 2。

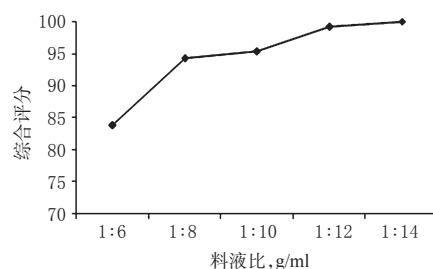


图 2 料液比对综合评分的影响

Fig 2 The effects of material-liquid ratio on the comprehensive score

由图 2 可见,料液比大于 1:8 后,综合评分趋于稳定。故选择 8 倍量、10 倍量和 12 倍量乙醇进一步进行正交试验。

2.3.3 提取时间 精密称取恰玛古药材粗粉 25 g,共 5 份,分别加入 8 倍量 95% 的乙醇溶液加热回流提取 2 次,每次 0.5、1、1.5、2、2.5 h,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,依法测定。计算得各提取液中硫代葡萄糖苷提取量分别为 7.09、7.42、7.32、6.31、5.55 mg/g,干膏得率分别为 24.36%、25.14%、25.13%、25.15%、25.20%。综合评分结果见图 3。

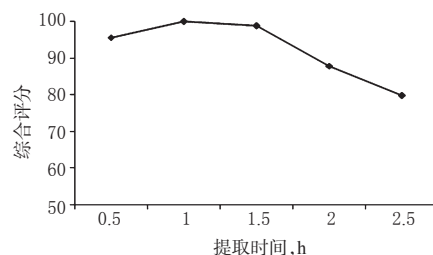


图 3 提取时间对综合评分的影响

Fig 3 The effects of extraction time on the comprehensive score

由图 3 可见,当提取时间大于 1.5 h 后,综合评分逐渐降低。故选择 0.5、1、1.5 h 进一步进行正交试验。

2.3.4 提取次数 精密称取恰玛古药材粗粉 25 g,共 4 份,分别加入 8 倍量 95% 的乙醇溶液加热回流提取 1、2、3、4 次,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,依法测定。计算得各提取液中硫代葡萄糖苷提取量分别为 5.56、7.42、7.50、7.60 mg/g,干膏得率分别为 19.25%、24.99%、24.90%、24.79%。综合评分结果见图 4。

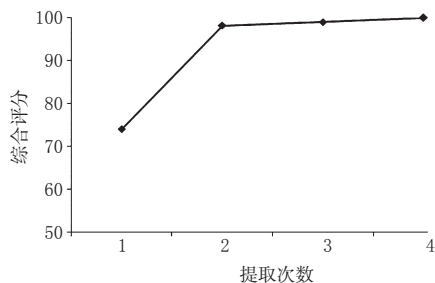


图4 提取次数对综合评分的影响

Fig 4 The effects of extraction times on the comprehensive score

由图4可见,当提取次数大于2次后,综合评分为98以上。为了充分提取药材中的有效成分,又考虑到工业成本,最终确定提取次数为2次。

#### 2.4 正交试验优选提取工艺条件

在单因素试验基础上,固定提取次数为2次,同时选择乙醇体积分数、提取时间、料液比为考察因素,以硫代葡萄糖苷提取量和干膏得率的综合评分为指标,按 $L_9(3^3)$ 正交表进行试验。精密称取恰玛古药材粗粉25 g,共9份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液。因素与水平见表1,正交试验安排及结果见表2,方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A(乙醇体积分数),%	B(提取时间),h	C(料液比),g/ml
1	95	1.5	1:12
2	85	1.0	1:10
3	75	0.5	1:8

表2 正交试验安排及结果

Tab 2 Orthogonal test arrangement and its results

试验号	A	B	C	D(空白列)	提取量,mg/g	干膏得率,%	综合评分
1	1	1	1	1	7.33	25.99	97.70
2	1	2	2	2	7.42	25.84	98.63
3	1	3	3	3	7.07	24.28	93.71
4	2	1	2	3	6.74	27.74	92.67
5	2	2	3	1	6.73	24.98	90.59
6	2	3	1	2	6.66	24.92	89.71
7	3	1	3	2	6.23	27.39	86.89
8	3	2	1	3	6.34	25.37	86.57
9	3	3	2	1	6.19	23.41	83.55
$K_1$	96.68	92.42	91.33	90.61			
$K_2$	90.99	91.93	91.62	91.74			
$K_3$	85.67	88.99	90.40	90.98			
R	11.01	3.43	1.22	1.13			

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P	显著性
A	181.90	2	90.95	91.34	0.011	<0.05
B	20.65	2	10.325	10.37	0.088	
C	2.44	2	1.22	1.22	0.450	
D	1.99	2	0.99	1.00	0.500	
误差	1.99	2	0.99			

注: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$

Note: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$

由直观分析可知,各因素对恰玛古硫代葡萄糖苷提取工艺的影响大小顺序为A(乙醇体积分数)>B(提取时间)>C(料液比),以乙醇体积分数对恰玛古中硫代葡萄糖苷提取效果的影响最大( $P<0.05$ )。经方差分析可知,提取时间、料液比对提取效果无显著性影响。因此,为降低成本、节省工时,结合单因素试验结果综合考虑,确定最优工艺为 $A_1B_2C_3$ ,即乙醇体积分数95%,提取时间1.0 h,料液比1:8。

#### 2.5 正交验证试验

据正交试验优选的提取工艺条件,进行3次验证试验,结果见表4。

表4 验证试验结果

Tab 4 Results of verification test

试验号	提取量,mg/g	干膏得率,%	综合评分	RSD,%
1	7.36	25.52	99.46	
2	7.32	25.09	98.79	
3	7.41	25.27	99.80	0.52
平均	7.36	25.29	99.35	

由表4可知,所优选出的提取工艺合理、稳定。

### 3 讨论

目前,恰玛古中硫代葡萄糖苷提取工艺主要选择高温水煎煮<sup>[1]</sup>,而在此条件下,硫代葡萄糖苷极易发生降解,引起成分变化<sup>[2]</sup>;并且之前有关工艺研究仅以硫代葡萄糖苷提取量为指标,未考虑提取条件对干膏得率的影响。因此,本研究在前期研究的基础上,首先采用乙醇为提取溶剂,可以避免硫代葡萄糖苷在水提取过程中的降解损失问题;其次,本研究以恰玛古中硫代葡萄糖苷提取量和干膏得率的综合评分为指标,指标更全面、合理。

恰玛古是新疆特色药用植物资源,具有丰富的营养成分、显著的保健作用、独特的临床效果和重要的经济价值,应用前景广阔<sup>[1-2]</sup>。当然,通过本工艺得到的是硫代葡萄糖苷粗提取物,故更进一步的研究是对硫代葡萄糖苷进行精制,或是对硫代葡萄糖苷及其他试验条件等进行筛选,以进一步优化提取条件、提高提取效率,为开发以恰玛古中硫代葡萄糖苷为药用成分的系列产品提供优质原料。

#### 参考文献

- [1] 王丽萍,王航宇,谭勇,等.维药恰玛古的研究进展[J].农垦医学,2012,34(6):525.
- [2] 李巧娟,肖春霞,张洪亮.维药恰玛古的研究现状[J].新疆中医药,2010,28(6):81.
- [3] 孙艳,安熙强,马媛,等.恰玛古蜜膏对小鼠免疫功能的影响[J].中国医药导报,2010,7(6):20.
- [4] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:维吾尔药分册[S].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:36.
- [5] 季宇彬,武晓丹,邹翔.硫代葡萄糖苷的研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2005,21(5):550.
- [6] 罗丽娜.硫代葡萄糖苷水解产物抗肿瘤作用的研究[D].武汉:华中科技大学,2007:44.
- [7] 杨洪升,王长宝,王长平,等.光果葶苈中硫代葡萄糖苷的提取工艺研究[J].黑龙江医药科学,2014,37(4):39.
- [8] 李锋,张春雷.芸苔属植物的生防作用[J].中国油料作物

# 莲威阿那其处方药材水提工艺优化<sup>△</sup>

金小越<sup>1\*</sup>, 帕提古丽·玉苏普<sup>2</sup>, 王华洋<sup>1</sup>, 耿东升<sup>3#</sup>(1.新疆医科大学第六附属医院药剂科, 乌鲁木齐 830002; 2.疏附县人民医院药剂科, 新疆喀什 844100; 3.新疆军区联勤部药品仪器检验所, 乌鲁木齐 830002)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)25-3551-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.25.32

**摘要** 目的:优化莲威阿那其处方药材水提工艺。方法:以多糖含量和粗多糖得率的综合评分为考察指标,以不同加水倍量、提取时间、提取次数为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优化莲威阿那其处方药材水提工艺并进行验证试验。结果:提取次数对考察指标的综合影响程度最大;最优水提工艺为加水倍量12倍、提取时间2.0 h、提取3次。验证试验中多糖含量平均值为36.34  $\mu\text{g/ml}$ ( $\text{RSD}=0.24\%$ ,  $n=3$ ),粗多糖得率平均值为10.18%( $\text{RSD}=0.65\%$ ,  $n=3$ )。结论:优选的提取工艺合理可行、重现性好,可为本处方的剂型改造提供参考。

**关键词** 莲威阿那其;正交试验;水提工艺;优化

## Optimization of Water Extraction Technology of Medicinal Material in Lian-wei Anacyclus Formulation

JIN Xiao-yue<sup>1</sup>, Patiguli·Yusupu<sup>2</sup>, WANG Hua-yang<sup>1</sup>, GENG Dong-sheng<sup>3</sup>(1.Dept. of Pharmacy, the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China; 2.Dept. of Pharmacy, People's Hospital of Shufu County, Xinjiang Kashgar 844100, China; 3.Institute of Drug and Instrument and Test of the Joint Logistics Department of Xinjiang Military Region, Urumqi 830002, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the water extraction process of medicine in lian-wei anacyclus prescription. METHODS: Composite score of polysaccharide content and raw polysaccharide were set as investigation index, the different adding water amount, extracting times and extraction duration were set as investigation factors, and  $L_9(3^4)$  orthogonal test were conducted to optimize the water extraction technology of medicine in lian-wei anacyclus prescription and verification test was carried out. RESULTS: Extracting times had the most significant effect on the investigation index; the most optimized process was as follows as 12 times of adding water amount, 2.0 h of extracting times, 3 times of extraction. The average content of polysaccharide was 36.34  $\mu\text{g/ml}$  ( $\text{RSD}=0.24\%$ ,  $n=3$ ) in the verification test, and the average content of raw polysaccharide was 10.18% ( $\text{RSD}=0.65\%$ ,  $n=3$ ). CONCLUSIONS: The optimized technology is reasonable, feasible and reproducible, and can provide reference for the dosage form transformation.

**KEYWORDS** Lian-wei anacyclus; Orthogonal experiment; Water extraction technology; Optimization

莲威阿那其处方为我院中医科治疗退行性骨关节炎、椎间盘突出症的常用煎剂处方,由雪莲、阿那其根、肉苁蓉、桑椹、鹿衔草、透骨草、生白术等12味药材组成,具有补骨通络、活血化瘀、祛风止痛之功效。传统煎剂煎煮、携带、服用不方便,剂型改造是必然趋势。为此,笔者以多糖含量和粗多糖得率为考察指标<sup>[1]</sup>,采用正交试验法优选莲威阿那其处方水提工艺,为该处方的剂型改造提供研究基础。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

R-200D型十万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司);JYT-5型架盘分析天平(上海医用激光仪器厂);AKHL-III-16型艾柯超纯水机(四川成都康宁实验专用纯水设备厂);UV-240型紫外-可见分光光度计(日本Shimadzu公司);W-201B型数显恒温水浴锅(江苏金坛市医疗仪器厂);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);ZKG4080型高温真空

学报,2006,28(1):97.

[9] 王宁惠.油菜籽(饼粕)中硫代葡萄糖苷总量速测方法-氯化钡法[J].青海农林科技,2009,12(3):58.

[10] 黄继英,王绥璋,李素梅.氯化钡-分光光度法测定油菜籽

<sup>△</sup>基金项目:新疆维吾尔自治区科技支疆项目(No.201191257)

\*副教授。研究方向:药物分析、药品质量控制。E-mail:jinxiaoyue0112@163.com

#通信作者:主任药师。研究方向:中药民族药。E-mail:dongsheng811@sina.com

硫苷含量的研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,1995,23(6):104.

[11] 王菁,白晓光,海力茜·陶尔大洪.新疆芫菁中硫代葡萄糖苷提取工艺条件的优化[J].西北药学杂志,2013,28(3):237.

[12] 修丽丽,钮昆亮.十字花科植物中的硫代葡萄糖苷及其降解产物[J].浙江科技学院学报,2004,16(3):187.

(收稿日期:2015-04-27 修回日期:2015-07-06)

(编辑:刘萍)