

七叶莲不同醇沉工艺评价*

黄玉香¹, 徐先祥², 陈静¹, 郑晨娜¹, 陈剑雄¹

(1. 泉州医学高等专科学校, 福建泉州 362021;

2. 华侨大学分子药物研究院 & 分子药物教育部工程研究中心, 福建泉州 362021)

摘要: 目的 考察不同醇沉方式对七叶莲醇沉产物品质的影响。方法 七叶莲水提液分别采用 50%, 60%, 70%, 80% 4 个浓度按计算量一次醇沉、分次醇沉、分级醇沉、多次醇沉 4 种不同工艺制备醇沉产物, 采用聚类分析的方法对不同醇沉产物的品质进行综合评价。结果 16 种样品以浓度为依据聚类, 在各自浓度下醇沉工艺不同聚合距离不同。结论 醇沉浓度对醇沉效果影响较大, 醇沉工艺对醇沉效果有一定的影响。

关键词: 七叶莲; 醇沉; 品质评价

中图分类号: R283.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)04-0029-03

七叶莲为五加科鹅掌柴属植物 (*Schefflera arboricola* Hayata) 的干燥茎叶, 又名汉桃叶, 能散瘀止痛、活血消肿, 临床上现有制剂七叶莲片用于风湿关节痛、胃肠溃疡疼痛的治疗^[1-2]。七叶莲片^[3]疗效显著, 但因以水粗提物直接为原料, 存在给药剂量大、杂质多的问题, 故寻找有效除杂方法对于提高制剂质量具有重要意义。水提醇沉法为中药传统精制方法, 具有工艺简单、操作方便的特点, 被广泛用于中药精制剂型的纯化, 但现行的醇沉技术, 往往生搬硬套, 不重视醇沉的对象与效果, 不考虑醇沉浓度与工艺对结果的影响。因此, 对特定中药进行专门的醇沉方式研究, 确定醇沉参数, 这对于中药制剂研究与开发以及中成药的临床用药都有重要的研究意义^[4]。

1 仪器、试剂和材料

Agilent 1200 高效液相色谱系统: G1311A 四元泵、G1329A 自动控制进样器、G1315D 二极管阵列检测; 30100-0193 型数字式 PH 计 (上海艾测电子科技有限公司); Milli.Q 超纯水系统 (美国 Millipore 公司); Sartorius BSA1243 万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为双蒸水; 反丁烯二酸 (批号 1541-200001, 中国药品生物制品检定所); 七叶莲药材采自福建省泉州市清源山, 经华侨大学生物医学学院刘建福副教授

鉴定为五加科鹅掌柴属植物七叶莲 (*Schefflera arboricola* Hayata) 的茎和叶。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

七叶莲茎叶细粉 100g → 水回流提取 → 浓缩干燥 → 干燥品 20g → 加入 10 倍量煮沸放冷的纯水搅拌后静置 1h → 定容至 250mL → 分取 16 份 (每份 15mL) 备用。

2.2 不同醇沉产物的制备^[4]

2.2.1 计算量一次醇沉

取 2.1 项下水溶液 4 份, 按图 1 所示流程进行操作。

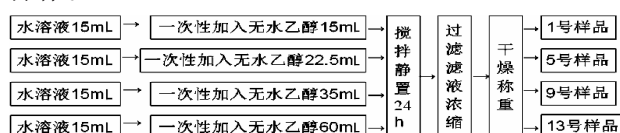


图 1 七叶莲水提液计算量一次醇沉工艺流程

2.2.2 分级醇沉

取 2.1 项下水溶液 4 份, 按图 2 所示流程进行操作。

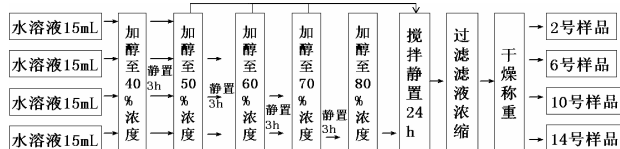


图 2 七叶莲水提液分级醇沉工艺流程

* 基金项目: 福建省科技重点项目(2012Y0049); 泉州市科技重点项目(2011Z29)

收稿日期: 2014-03-02

作者简介: 黄玉香(1982-), 女, 福建泉州人, 讲师, 主要从事天然药物开发研究工作。

2.2.3 分次醇沉

取2.1项下水溶液4份,按图3所示流程进行操作。

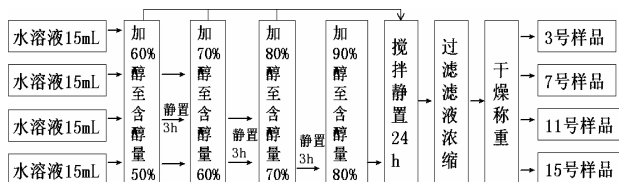


图3 七叶莲水提液分次醇沉工艺流程

2.2.4 多次醇沉

取2.1项下水溶液4份,按图4所示流程进行操作。

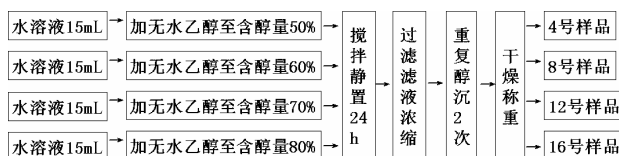


图4 七叶莲水提液多次醇沉工艺流程

2.3 七叶莲中总有机酸和反丁烯二酸的含量测定

2.3.1 总有机酸含量测定方法^[5]

精密称取七叶莲水提物0.5g,加煮沸放冷的纯水10mL溶解,过滤,洗涤残渣2次,合并滤液,用容量瓶定容至50mL,加0.1mol/L NaOH调节PH至11.5左右,用乙酸乙酯反复萃取至萃取液无色,收集碱水液,以浓盐酸酸化至PH至2左右,再以乙酸乙酯反复萃取至萃取液无色,合并乙酸乙酯萃取液,减压回收乙酸乙酯,蒸干后用煮沸放冷的纯水超声辅助溶解,转移入50mL容量瓶中作为供试品溶液,按照酸碱电位滴定法操作流程进行测定,经考察方法的精密性、稳定性、重复性和加样回收情况,该法准确可行。

2.3.2 反丁烯二酸含量测定法^[6-7]

称取七叶莲水提物50mg,置5mL容量瓶中,加流动相溶解后定容,超声处理10min(30℃,功率200W),放冷后补足量至刻度,用0.45μm微孔滤膜过滤,续滤液即为供试品溶液。按色谱柱Hypersil ODS柱(4.6mm×250mm,5μm,大连依利特分析仪器有限公司),流动相[乙腈:0.1%磷酸=(2:98)],流速0.8mL/min,检测波长210nm,柱温28℃,进样量20μL的色谱条件进行梯度洗脱,经考察方法的精密性、稳定性、重复性和加样回收情况,该法准确可行。

2.4 不同方式醇沉产物品质评价

将2.2项下所获得的醇沉产物按照2.3项所述

含量测定方法分别测定总有机酸和反丁烯二酸含量,结果见表1。由表1可见,在计算量一次性醇沉工艺中,乙醇浓度50%与60%获得的反丁烯二酸得率和总有机酸得率相差不大,但随着浓度的增大,二者有增大的趋势;在分级醇沉工艺和分次醇沉中,浓度变化对反丁烯二酸得率和总有机酸得率均影响不大;在多次醇沉工艺中,乙醇浓度50%与60%之间时反丁烯二酸得率和总有机酸得率变化较大,乙醇浓度较大时二者也较大。

表1 七叶莲水提物不同醇沉工艺品质评价结果

醇沉浓度/%	样品	浸膏重量/g	反丁烯二酸得率/(mg/g)	总有机酸得率/(mg/g)	浸膏得率/%
50	1	0.221	0.908	18.960	18.417
	2	0.255	0.457	10.860	21.250
	3	0.274	0.796	18.491	22.833
	4	0.507	0.444	10.449	42.250
60	5	0.120	0.825	18.784	10.000
	6	0.150	0.978	20.839	12.500
	7	0.263	0.769	19.606	21.917
	8	0.364	0.967	19.958	30.333
70	9	0.145	1.015	21.719	12.083
	10	0.204	0.905	19.078	17.000
	11	0.228	0.873	18.314	19.000
	12	0.357	0.945	21.015	29.750
80	13	0.057	1.154	22.658	4.750
	14	0.106	1.113	23.480	8.833
	15	0.117	0.997	21.367	9.750
	16	0.306	1.111	23.187	25.500

注:1、5、9、13为计算量一次醇沉样品,2、6、10、14为分级醇沉样品,3、7、11、15为分次醇沉样品,4、8、12、16为多次醇沉样品。

将品质评价结果利用SPSS17.0统计分析软件进行聚类分析,运用聚合距离(λ)作为样品的测度,结果见图5。由谱系图可见,当聚合距离 $\lambda < 1$ 时,没有任何样品聚合到一起,说明乙醇浓度和醇沉工艺对醇沉结果有影响;当聚合距离 $\lambda = 2$ 时,样品13和样品15发生聚合,说明80%乙醇在计算量一次醇沉工艺和分次醇沉工艺上没有显著区别,乙醇浓度是这两个醇沉过程的主要影响因素;当聚合距离 $\lambda = 25$ 时,样品2、4、10、12、13、15聚合成一类,其他样

品尚未见有聚合,说明醇沉工艺对醇沉结果有影响。结合表1和图5来看,七叶莲水提醇沉的最佳醇沉工艺为浓度80%乙醇多次醇沉工艺。

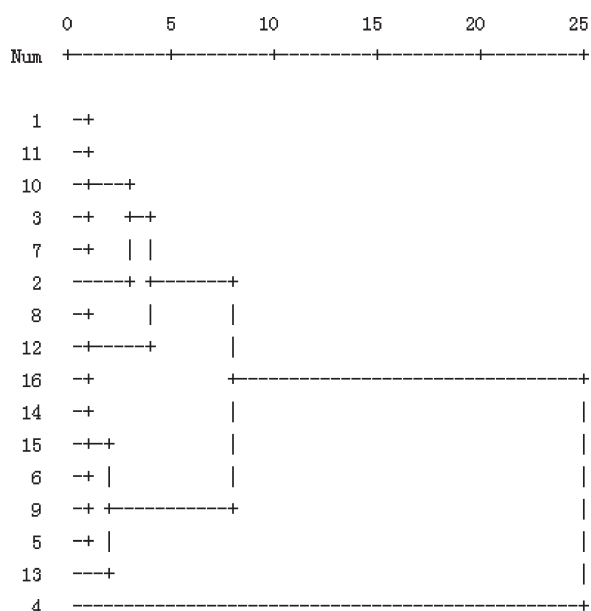


图5 七叶莲不同方式醇沉样品的聚类分析谱系图

3 讨论

七叶莲是以反丁烯二酸为代表的有机酸类化学成分为有效部分之一^[1],研究中以二者为指标,结合各不同醇沉工艺产物的得率综合评价各醇沉工艺。聚类分析是数值分类学的重要方法之一,可将每个样品看作多维空间的一个点,给出样品的观察指标,在空间定义距离,将聚类较近的点归为一类,则二者有一定的相似性^[4]。本研究以样品中反丁烯二酸得率、总有机酸得率和浸膏得率为观察指标进

行聚类分析,对七叶莲水提液醇沉样品的品质进行评价。

水提醇沉工艺中醇沉浓度和醇沉工艺是主要影响因素,醇沉方式不同则醇沉产物的品质不同,实验中醇沉浓度是影响七叶莲醇沉产物品质的主要因素,醇沉工艺对醇沉结果也有较大影响,醇沉产物药效评价将于后续进行报道。本研究可为七叶莲相关制剂和有机酸类化学成分的纯化研究提供参考,也为其他天然药物的醇沉研究提供借鉴。

参考文献:

- [1] 刘同祥,张艳平. 七叶莲的研究进展[J]. 中央民族大学学报(自然科学版),2010,19(2):75-77.
- [2] 黄玉香,徐先祥,陈剑雄,等. 七叶莲果实抗炎镇痛作用研究[J]. 食品工业科技,2012,33(24):397-398,402.
- [3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·成方制剂(第十一册)[S]. 北京:人民卫生出版社,1996:49.
- [4] 孙玉琦,刘晓娟,谢成国,等. 大黄不同方式醇沉产物品质评价[J]. 中药材,2010,33(10):1642-1644.
- [5] 马莉,唐健元,李祖伦,等. 板蓝根提取物中总有机酸和水杨酸含量测定方法研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(10):804-806.
- [6] 韩海,王欢,于荣敏. 高效液相色谱法测定七叶莲胶囊中反丁烯二酸的含量[J]. 中药材,2004,27(8):613-614.
- [7] Baatia T, Horcajada P, Grefb R, et al. Quantification of fumaric acid in liver, spleen and urine by high performance liquid chromatography coupled to photodiode array detection [J]. Pharm Biomed Anal, 2011, 56(4): 758-762.

(编辑:杨阳)

Evaluation of Different Ethanol Precipitation Process about *Schefflera arboricola* Hayata

HUANG Yu-xiang¹, XU Xian-xiang², CHEN Jing¹, ZHENG Chen-na¹, CHEN Jian-xiong¹

(1. Quanzhou Medical College, Quanzhou 362021, China; 2. Institute of Molecular Medicine, Huaqiao University & Engineering Research Center of Molecular Medicine, Ministry of Education, Quanzhou 362021, China)

ABSTRACT: **Objective** Compared the ethanol precipitated products' quality about *Schefflera arboricola* Hayata by different ways of ethanol precipitation. **Methods** Four different processes were carried out with ethanol concentration 50%, 60%, 70%, 80%, and evaluated the quality of different products by cluster analysis. **Results** Samples were clustered based on the concentration, and they were different with different process. **Conclusion** Ethanol concentration has a greater influence on the products, meanwhile ethanol precipitation process has some influence.

KEY WORDS: *Schefflera arboricola* Hayata; ethanol precipitate; quality evaluation