

[2] 张华峰, 杨晓华. 淫羊藿的生物活性成分及其开发策略研究[J]. 中草药, 2010, 41(2): 329-332.

[3] 刘春明, 刘志强, 窦建鹏, 等. 朝鲜淫羊藿中生物碱类新成分的分离提取及结构鉴定[J]. 高等学校化学学报, 2003, 24(12): 2215-2217.

[4] Ma H P, He X R, Yang Y, *et al.* The genus *Epimedium*: an ethnopharmacological and phytochemical review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3): 519-541.

[5] Lu Y, Wang D Y, Hu Y L, *et al.* Sulfated modification of *Epimedium* polysaccharide and effects of the modifiers on cellular infectivity of IBDV [J]. *Carbohydr Polym*, 2008, 71(2): 180-186.

[6] 尹剑云, 陈红风. 淫羊藿及其有效成分抗肿瘤机制的研究进展[J]. 中西医结合学报, 2009, 7(12): 1184-1187.

[7] Sharan K, Siddiqui J A, Swarnkar G, *et al.* Role of phytochemicals in the prevention of menopausal bone loss; evidence from *in vitro* and *in vivo*, human interventional and pharmacokinetic studies[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(9): 1138-1157.

[8] 李 倩, 李 晓, 魏 悦, 等. 淫羊藿总黄酮的碱提工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(7): 1141-1144.

[9] 侯莹莹, 赵 岩, 唐国胜, 等. 中心组合设计-响应曲面法优化淫羊藿苷超声波提取工艺[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(10): 175-181.

[10] 黄瑞华, 韩 伟, 周永传, 等. 微波辅助提取淫羊藿饮片中淫羊藿苷的热质同向传递数值模拟[J]. 化工学报, 2005, 56(7): 1300-1304.

[11] 肖红涛, 刘 雨, 张 伟, 等. 加热回流法提取淫羊藿苷的试验研究[J]. 生物技术世界, 2015(3): 70-72.

[12] Guan Y Q, Zhang Y W, Zhang L. Optimization for supercritical CO₂ extraction of icariin by response surface method[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2011, 20(2): 159-163.

[13] 毛白杨, 郑 洁, 赵晓红, 等. 响应面优化淫羊藿抗氧化多酚超声提取工艺[J]. 广州化工, 2014, 42(23): 64-66.

[14] 张雯婧. 朝鲜淫羊藿的活性成分及三种淀粉冻融性质的研究[D]. 天津: 天津大学, 2012.

[15] 关雅琼. 淫羊藿活性成分的超临界萃取工艺和分析方法研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2011.

[16] 刘玉梅, 顾小红, 汤 坚, 等. 超临界萃取啤酒花浸膏及其萃取物中多酚化合物提取的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(9): 155-158.

[17] 顾仁勇, 杨万根, 余 洁. 响应面优化超临界 CO₂ 萃取八月瓜幼果多酚工艺[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 76-80.

[18] 葛保胜, 王秀道, 孟 磊, 等. 超临界二氧化碳萃取核桃油的工艺研究[J]. 食品工业, 2003(2): 44-46.

[19] Ferreira S L C, Bruns R E, Ferreira H S, *et al.* Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 597(2): 179-186.

[20] 张南生, 孙卫军, 郭 虹, 等. Box-Behnken Design 效应面法在制剂处方优化中的应用[J]. 中国医药导报, 2015, 12(23): 34-37.

粉葛中葛根素提取工艺的优化及其提取物抗氧化活性

潘 俊¹, 匡慕予², 田 浩¹, 王瀚墨¹, 张 庭³, 杨 芳¹, 侯朝祥¹, 李智敏^{3*}
(1. 云南省农业科学院农产品加工研究所, 云南 昆明 650205; 2. 云南大学农学院, 云南 昆明 650504; 3. 云南省农业科学院药用植物研究所, 云南 昆明 650223)

摘要: **目的** 优化粉葛中葛根素提取工艺, 并评价其提取物抗氧化活性。**方法** 在单因素试验基础上, 以料液比、提取温度、提取时间、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 质量浓度为影响因素, 葛根素提取率为评价指标, 正交试验优化提取工艺。再测定粉葛提取物对·OH、O₂⁻·自由基的清除作用。**结果** 最佳条件为料液比 1: 16, 提取温度 60 ℃, 提取时间 2.5 h, PVP 质量浓度 45 mg/mL, 葛根素提取率 1.604%。粉葛提取物对这 2 种自由基的清除作用显著增加。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于提取粉葛中葛根素, 并且加入助溶剂 (PVP) 可提高其提取物的抗氧化活性。

关键词: 粉葛; 葛根素; 提取; 抗氧化活性; 正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)11-2430-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.014

收稿日期: 2018-06-11
基金项目: 云南省农科院科技创新能力提升专项-农产品加工研究平台建设 (2017YB26404); 云南省科技重点研发计划项目 (2018BB024)
作者简介: 潘 俊 (1982—), 男, 副研究员, 从事天然产物及生物活性研究。E-mail: 38435992@qq.com
*** 通信作者:** 李智敏 (1979—), 女, 副研究员, 从事功能性食品与化妆品研发。E-mail: 393891330@qq.com

Puerarin from *Pueraria thomsonii*, its extraction technique optimization and the extract's antioxidant activity

PAN Jun¹, KUANG Mu-yu², TIAN Hao¹, WANG Han-mo¹, ZHANG Ting³, YANG Fang¹,
HOU Chao-xiang¹, LI Zhi-min^{3*}

(1. Institute for Agricultural Products Processing, Yunnan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China; 2. School of Agriculture, Yunnan University, Kunming 650504, China; 3. Institute for Medicinal Plants, Yunnan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the extraction technique for puerarin from *Pueraria thomsonii* Benth. and to evaluate the extract's antioxidant activity. **METHODS** With solid-liquid ratio, extraction temperature, extraction time and polyvinyl pyrrolidone (PVP) concentration as influencing factors, puerarin extraction rate as an evaluation index, orthogonal test was applied to optimizing the extraction on the basis of single factor experiment. Subsequently the scavenging effects of *P. thomsonii* extract on $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$ free radicals were determined. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 1 : 16 for solid-liquid ratio, 60 $^{\circ}\text{C}$ for extraction temperature, 2.5 h for extraction time, and 45 mg/mL for PVP concentration, the puerarin extraction rate was 1.604%. *P. thomsonii* extract demonstrated significantly increased scavenging effects on these two free radicals. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the extraction for puerarin from *P. thomsonii*, and the addition of cosolvent (PVP) can improve the extract's antioxidant activity.

KEY WORDS: *Pueraria thomsonii* Benth.; puerarin; extraction; antioxidant activity; orthogonal test

葛根最早记载于《神农本草经》中^[1], 具有解肌退热、生津止渴、解酒毒等功效, 常用于外感发热头痛、口渴、消渴、眩晕头痛、酒毒等症状^[2-3]。它主要来源于豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 和粉葛 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根, 由于两者有效成分含有量区别明显 (主要是葛根素), 故 2005 版《中国药典》将其区分开^[4]。

葛根素是野葛、粉葛中特有的活性成分, 具有降血压、扩张冠状动脉、调节酒精代谢、改善微循环、降血糖、降血脂、抗氧化等多种生物活性。临床应用以野葛为主, 而粉葛食用较多, 并已被收录在药食两用名单中, 目前市场上已有多种基于粉葛开发的保健品^[5-12]。现代研究表明, 温度、 Cu^{2+} 、还原剂 Na_2SO_3 对葛根素稳定性的影响较大^[13-14], 并且其水溶性、脂溶性均较低, 很大程度上限制了粉葛作为药食同源产品的开发和应用^[15-17]。目前, 针对粉葛中葛根素的研究相对较少, 为保证在生产加工过程中充分提取利用该成分, 本实验采用正交试验优化其提取工艺, 并考察粉葛提取物的抗氧化活性。

1 材料

1.1 试药 粉葛由云南博尚生物科技有限公司提供, 经云南省农业科学院药用植物研究所张金渝研

究员鉴定为豆科植物粉葛 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根。葛根素 (含有量 $\geq 98\%$) 购自南京森贝伽生物科技有限公司; 赖氨酸、烟酰胺、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 购自上海东土化工进出口有限公司。甲醇为色谱纯 (美国 Sigma 公司); 邻二氮菲、硫酸亚铁、邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 购自上海山浦化工有限公司。

1.2 仪器 U3000 高效液相色谱仪 (美国戴安公司); Driect-Q5 超纯水机 (美国 Millipore 公司); R-215 旋转蒸发仪 (瑞士 Buchi 公司); AL104-IC 电子天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); T6 新世纪紫外可见分光光度计 (云南悦分环境检测有限公司); HS-10260D 超声波清洗器 (上海五久自动化设备有限公司)。

2 方法

2.1 葛根素含有量测定

2.1.1 色谱条件 Welch materials C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水, 等度洗脱 (25 : 75); 检测波长 250 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL 。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取葛根素对照品 10 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得 (质量浓度为 1 mg/mL)。

2.1.3 供试品溶液制备 取 10 g 药材置于三角瓶

中,加入 200 mL 30% 乙醇超声提取 40 min,过滤,即得。

2.1.4 方法学考察 精密吸取“2.1.2”项下对照品溶液 1、2.5、5、10、15 μL ,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,以峰面积积分值为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X)进行回归。精密吸取对照品溶液 20 μL ,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次,记录峰面积,考察精密度。取同一批药材 6 份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,记录峰面积,考察重复性。精密吸取供试品溶液 20 μL ,于 0、2、4、6、8、10、12 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,记录峰面积,考察稳定性。

2.1.5 提取率计算 根据“2.1.4”项下回归方程测得葛根素含有量后,计算提取率,公式为 $T = \frac{W_y}{W_0 \times 1000} \times 100\%$,其中 T 为葛根素提取率, W_y 为提取液中葛根素量 (mg), W_0 为药材质量 (g)。

2.2 抗氧化活性实验

2.2.1 对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除作用 采用 Fenton 反应^[18-19]。量取 5 mmol/L 邻二氮菲溶液 1.5 mL,加入 4.0 mL PBS 缓冲液 (pH = 7.4),充分混匀,加入 1.0 mL 7.5 mmol/L 硫酸亚铁溶液,立即混匀,加入 2.5 mL 去离子水补充体积,最后加入 1.0 mL 1% H_2O_2 ,37 $^{\circ}\text{C}$ 下保温 1 h,于 536 nm 波长处测定吸光度 A_1 ;加入 2.5 mL 提取物后再加 H_2O_2 ,测定吸光度 A_2 ;不加 H_2O_2 和提取物,加入 3.5 mL 去离子水补充体积,测定吸光度 A_3 ,计算清除率,公式为清除率 = $\frac{A_2 - A_1}{A_3 - A_1} \times 100\%$ 。

2.2.2 对 O_2^- 自由基的清除作用 采用邻苯三酚自氧化法^[20]。量取 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH = 8.2) 4.5 mL,加入 4.2 mL 去离子水、0.3 mL 3 mmol/L 的邻苯三酚 (以 10 mmol/L HCl 代替邻苯三酚作为空白对照),混匀后立即倒入比色杯,于 325 nm 波长处扫描 5 min,得到吸光度随时间的变化率 F_0 ;加入 1.0 mL 提取物溶液后加入 3.2 mL 去离子水,得到吸光度随时间的变化率 F_x ,计算清除率,公式为清除率 = $\frac{F_0 - F_x}{F_0} \times 100\%$ 。

2.3 单因素试验

2.3.1 提取温度 (无助溶剂) 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,料液比 1 : 8,于 40、50、60、70、80、90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴下提取 2 h 后减压抽滤,收集滤

液, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.3.2 助溶剂种类 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,加入 PVP、赖氨酸、烟酰胺 3 种助溶剂,质量浓度均为 40 g/mL,并设置不加助溶剂的空白组,料液比 1 : 8,40 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴提取 2 h 后减压抽滤,收集滤液, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.3.3 助溶剂质量浓度 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,加入不同质量浓度 (20、30、40、50、60 mg/mL) 的助溶剂,料液比 1 : 8,40 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴提取 2 h 后减压抽滤,收集滤液, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.3.4 提取次数 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,加入适量助溶剂,料液比 1 : 8,40 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴提取 2 h 后减压过滤,收集滤液,设置提取次数为 1、2、3 次, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.3.5 提取温度 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,加入适量助溶剂,料液比 1 : 8,不同温度 (30、40、50、60、70 $^{\circ}\text{C}$) 下提取 2 h 后减压抽滤,收集滤液, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.3.6 料液比 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,加入适量助溶剂,选择料液比 1 : 5、1 : 10、1 : 15、1 : 20,40 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴提取 2 h 后减压抽滤,收集滤液, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.3.7 提取时间 取 10 g 粉碎后的药材置于三角瓶中,加入适量助溶剂,料液比 1 : 8,40 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴提取 1、2、3、4 h 后减压抽滤,收集滤液, HPLC 法测定葛根素含有量,计算其提取率。

2.4 正交试验 在单因素试验基础上,考察助溶剂质量浓度、提取温度、提取时间、料液比对葛根素提取率的影响,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。

3 结果

3.1 方法学考察 色谱图见图 1。回归方程为 $Y = 79.299X - 0.3775$ ($R^2 = 0.9996$),在 1 ~ 15 μg 范围内线性关系良好。在精密度、重复性、稳定性试验中,葛根素峰面积 RSD 分别为 0.15%、2.34%、0.46%,表明上述参数稳定。

3.2 单因素试验

3.2.1 提取温度 (无助溶剂) 图 2 显示,葛根素提取率随温度呈上升趋势,在 80 $^{\circ}\text{C}$ 时最高,达 1.38%;在 90 $^{\circ}\text{C}$ 时反而降低 (1.21%),其原因

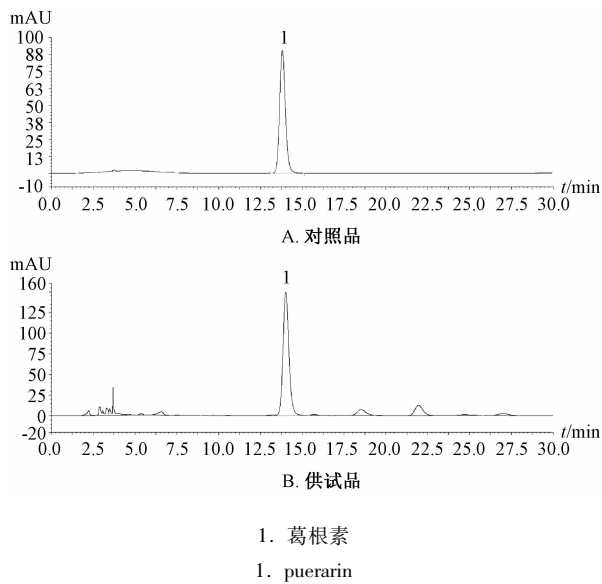


图 1 葛根素 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of puerarin

可能是温度在 80 ℃ 以上时葛根素开始分解，导致其提取率降低。因此，选择提取温度（无助溶剂）为 80 ℃。

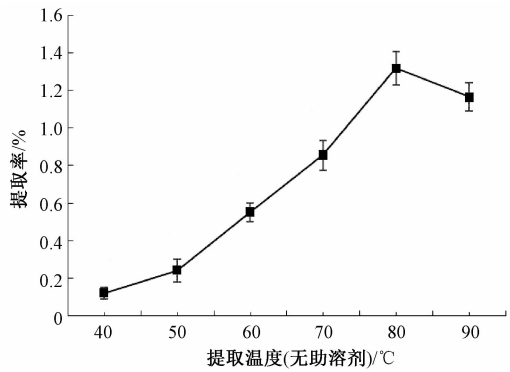


图 2 提取温度（无助溶剂）对葛根素提取率的影响

Fig. 2 Effects of extraction temperature (without cosolvent) on puerarin extraction rate

3.2.2 助溶剂种类 图 3 显示，40 ℃ 不加助溶剂直接水浴提取时，葛根素提取率非常低，而加入 PVP、赖氨酸、烟酰胺 3 种助溶剂后均有所提高，以 PVP 更显著，与前期报道一致^[16,21]。因此，选择助溶剂种类为 PVP。

3.2.3 助溶剂质量浓度 图 4 显示，PVP 质量浓度在 20 ~ 50 mg/mL 时，葛根素提取率随着其增加呈上升趋势，在 50 mg/mL 时达到最大，但继续增加后反而有所下降，表明可能存在饱和质量浓度，当 PVP 质量浓度超过该值时，对葛根素的助溶作用不明显。由于 PVP 质量浓度高于 40 mg/mL 时葛根素提取率增加不明显，出于成本考虑，选择 PVP

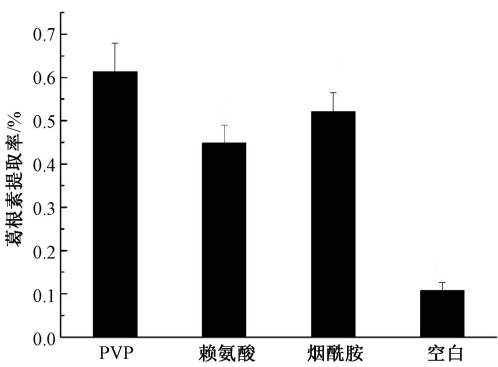


图 3 助溶剂种类对葛根素提取率的影响

Fig. 3 Effects of cosolvent type on puerarin extraction rate

质量浓度为 40 mg/mL。

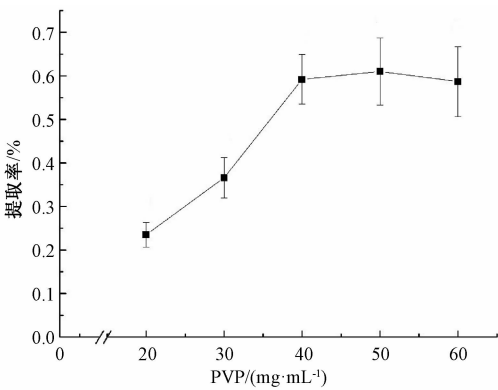


图 4 PVP 质量浓度对葛根素提取率的影响

Fig. 4 Effects of PVP concentration on puerarin extraction rate

3.2.4 提取次数 图 5 显示，提取 1、2 次后提取率相差较大，表明提取 1 次后仍有相当一部分葛根素残留在药材中；提取 2、3 次后提取率相差不大，表明提取 2 次后葛根素残留不多。此外，提取 3 次后提取液颜色更浅，表明包括色素在内的成分质量浓度均明显降低。因此，选择提取次数为 2 次。

3.2.5 提取温度 图 6 显示，葛根素提取率随提取温度升高而增加，这是因为温度升高导致该成分在水中的溶解度升高，并且使得扩散系数增加，在 40 ℃ 时提取率为 0.9%，但无助溶剂下仅为 0.1%（图 2）；高于 40 ℃ 后，提取率增加程度趋缓，表明高温可导致该成分及其他黄酮类物质分解，并且破坏提取物抗氧化活性，同时提取成本也会增加。因此，选择提取温度为 40 ℃。

3.2.6 料液比 图 7 显示，随着料液比增加，葛根素提取率随之上升；当料液比超过 1 : 10 时，提取率增加程度不明显，反而有下降趋势。考虑到溶

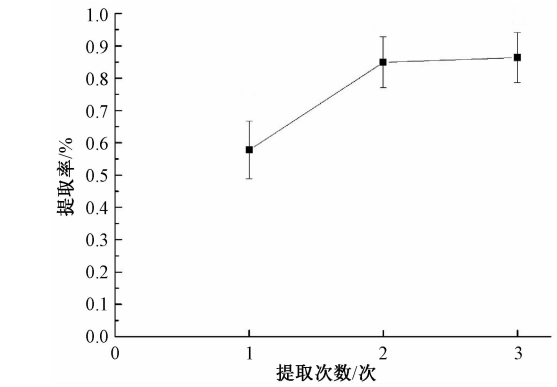


图 5 提取次数对葛根素提取率的影响

Fig.5 Effects of extraction times on puerarin extraction rate

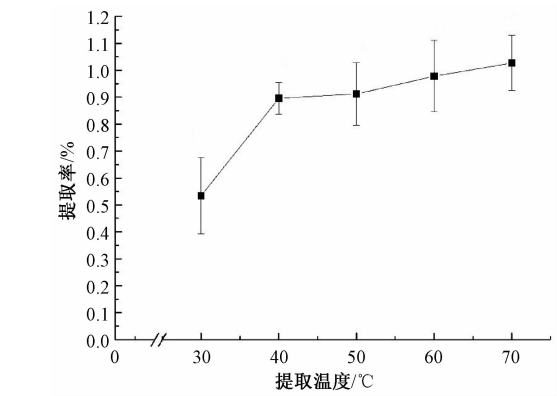


图 6 提取温度对葛根素提取率的影响

Fig.6 Effects of extraction temperature on puerarin extraction rate

剂增加时会带来成本上升，浓缩、回收溶剂更困难等问题，选择料液比为 1：10。

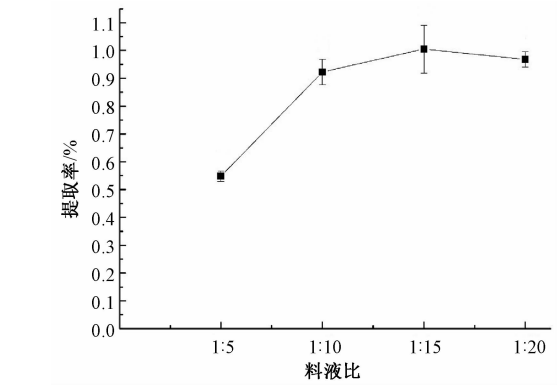


图 7 料液比对葛根素提取率的影响

Fig.7 Effects of solid-liquid ratio on puerarin extraction rate

3.2.7 提取时间 图 8 显示，提取时间越长，葛根素提取率越高，这是因为时间越长该成分的扩散与溶解越充分；当提取时间超过 2 h 后，提取率增

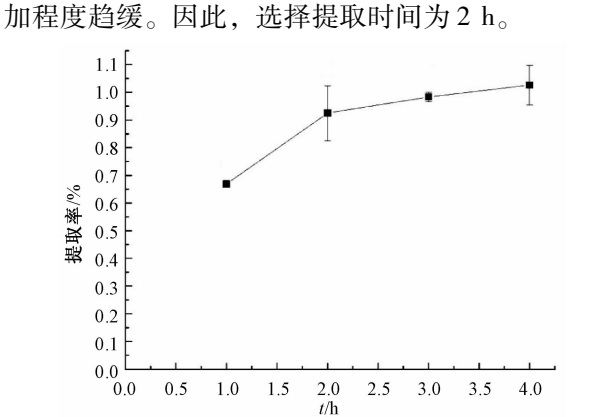


图 8 提取时间对葛根素提取率的影响

Fig.8 Effects of extraction time on puerarin extraction rate

3.3 正交试验 根据单因素试验结果，选择 PVP 作为助溶剂，固定提取次数为 2 次，通过正交试验考察料液比 (A)、提取温度 (B)、提取时间 (C)、PVP 质量浓度 (D) 对葛根素提取率的影响。因素水平见表 1，结果见表 2，方差分析见表 3。

由表 2 可知，因素 A 的 K 值依次为 $K_4 > K_3 > K_1 > K_2$ ，因素 B 依次为 $K_4 > K_3 > K_2 > K_1$ ，因素 C 依次为 $K_3 > K_4 > K_2 > K_1$ ，因素 D 依次为 $K_3 > K_2 > K_4 > K_1$ ，故最优工艺为 $A_4B_4C_3D_3$ ，即料液比 1：16，提取温度 60℃，提取时间 2.5 h，PVP 质量浓度 45 mg/mL；各因素极差 R 依次为 $D > B > C > A$ ，即 PVP 质量浓度 > 提取温度 > 提取时间 > 料液比。由表 3 可知，因素 B、D 影响较显著 ($P < 0.05$)，A、C 影响不显著 ($P > 0.05$)，与表 2 一致。

表 1 因素水平				
Tab.1 Factors and levels				
水平	A 料液比	B 提取温度/°C	C 提取时间/h	D PVP/(mg·mL ⁻¹)
1	1：10	30	1.5	35
2	1：12	40	2.0	40
3	1：14	50	2.5	45
4	1：16	60	3.0	50

由于表 3 显示料液比和提取时间均无显著性影响 ($P > 0.05$)，故在考虑经济和时间的基础上结合单因素试验结果，选择料液比 1：10，提取时间 2 h，其他参数不变，作为经济工艺，与最优工艺分别进行 3 批验证试验，结果见表 4。由表可知，经济工艺下葛根素提取率也有 1.490%，与最优工艺下的 1.604% 差异不大，故可根据实际需要选择合适的提取工艺。

表 2 试验设计及结果
Tab. 2 Design and results of tests

试验号	A	B	C	D	E(误差)	葛根素提取率/%
1	1	1	1	1	1	0.312
2	1	2	2	2	2	0.910
3	1	3	3	3	3	1.387
4	1	4	4	4	4	1.125
5	2	1	2	3	4	0.723
6	2	2	1	4	3	0.922
7	2	3	4	1	2	0.632
8	2	4	3	2	1	1.274
9	3	1	3	4	2	0.873
10	3	2	4	3	1	1.230
11	3	3	1	2	4	1.097
12	3	4	2	1	3	0.835
13	4	1	4	2	3	0.943
14	4	2	3	1	4	0.803
15	4	3	2	4	1	1.288
16	4	4	1	3	2	1.240
K ₁	0.933	0.713	0.893	0.645	1.026	—
K ₂	0.888	0.966	0.939	1.056	0.914	—
K ₃	1.009	1.101	1.084	1.145	1.022	—
K ₄	1.069	1.119	0.983	1.052	0.937	—
R	0.181	0.367	0.191	0.500	0.112	—

表 3 方差分析
Tab. 3 Analysis of variance

因素	离均差平方和	自由度	F 值	P 值
A	0.077	3	1.925	>0.05
B	0.421	3	10.525	<0.05
C	0.080	3	2.000	>0.05
D	0.600	3	15.000	<0.05
E(误差)	0.04	3	—	—

表 4 验证试验结果 (n=3)
Tab. 4 Results of verification tests (n=3)

工艺	葛根素提取率 (Ⅰ)/%	葛根素提取率 (Ⅱ)/%	葛根素提取率 (Ⅲ)/%	平均值/ %
最优工艺	1.594	1.610	1.608	1.604
经济工艺	1.477	1.493	1.501	1.490

3.4 抗氧化活性 表 5 显示, 低温助溶组(料液比 1:16, 60 ℃下提取 2.5 h, 加入 45 mg/mL PVP 作为助溶剂)对 ·OH、O₂⁻· 自由基的清除率明显高于其他 2 组, 这是因为在提取过程中低温对照组(料液比 1:16, 60 ℃下提取 2.5 h, 不加助溶剂)无助溶剂, 故葛根素提取率较低, 对 2 种自由基的清除率也不高; 高温对照组(料液比 1:16, 90 ℃下提取 2.5 h, 加入 45 mg/mL PVP 为助溶剂)一部分葛根素分解损失^[22], 同时高温也会破坏提取物的抗氧化活性^[23]。

表 5 提取物对 ·OH、O₂⁻· 自由基的清除作用
Tab. 5 Scavenging effects of extract on ·OH, O₂⁻· free radicals

组别	对·OH 的清除率/%	对 O ₂ ⁻ · 的清除率/%
低温助溶组	41.68	21.36
低温对照组	8.92	6.75
高温对照组	25.57	16.28

4 讨论与结论

PVP 助溶提取粉葛中葛根素属于低温提取法, 可避免传统工艺低温下提取率低、高温下易分解的缺点, 而且 PVP 具有优异的生物相容性, 极易溶于水, 安全无毒, 在医药与食品领域应用广泛^[24-25]。但目前尚无 PVP 对葛根素助溶机制的报道, 可能与该分子和药物分子间的物理、化学缔合作用有关^[26-27]。

本实验在单因素试验基础上, 通过正交试验优化粉葛中葛根素提取工艺, 得到最佳条件为料液比 1:16, 提取温度 60 ℃, 提取时间 2.5 h, PVP 质量浓度 45 mg/mL, 葛根素提取率 1.604%, 并且粉葛提取物对 ·OH、O₂⁻· 的清除作用, 即抗氧化活性有所提高, 该方法可为生产加工过程中充分提取利用该成分提供参考依据。

参考文献:

[1] 马继兴. 神农本草经辑注[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 194.

[2] 李天星, 李新民. 中药葛根的研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2013, 29(8): 151-153.

[3] 赖 玲. 葛根的研究进展[J]. 海峡药学, 2013, 25(1): 10-14.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 203, 233.

[5] Murphy E. Primary and secondary signaling pathways in early preconditioning that converge on the mitochondria to produce cardioprotection[J]. *Circ Res*, 2004, 94(1): 7-16.

[6] 董丽萍, 王天佑. 葛根素抗谷氨酸对小鼠神经细胞兴奋毒的作用[J]. 中国药理学报, 1998, 19(4): 339-342.

[7] Keung W M, Klyosov A A, Vallee B L. Daidzin inhibits mitochondrial aldehyde dehydrogenase and suppresses ethanol intake of Syrian golden hamsters[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(5): 1675-1679.

[8] 程斯倩, 陈 雪, 于馨洋, 等. 葛根异黄酮药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(1): 46-49.

[9] Zhang Z J, Li S, Jiang J, et al. Preventive effects of *Flos Perariae* (Gehua) water extract and its active ingredient puerarin in rodent alcoholism models[J]. *Chin Med*, 2010, 5: 36.

[10] 赵莹莲. 葛根素的药理作用及临床应用进展[J]. 安徽医药, 2010, 14(12): 1377-1379.

[11] Coxam V. Phyto-oestrogens and bone health: symposium on ‘Diet and bone health’ [J]. *Proc Nutr Soc*, 2008, 67(2): 184-195.

[12] Song W, Li Y J, Qiao X, *et al*. Chemistry of the Chinese herbal medicine *Puerariae Radix* (Ge-Gen): A review[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2014, 23(6): 347-360.

[13] 国海东, 蒋 艳, 上官新晨, 等. 葛根素的稳定性研究[J]. *食品科技*, 2014, 39(11): 229-232.

[14] 李 玲, 全沁果, 沈艳欣, 等. 野葛藤地上部分葛根素的提取及稳定性研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(9): 235-239.

[15] 高 远, 吕邵娃, 孙 爽, 等. 提高葛根素生物利用度的研究进展[J]. *中医药学报*, 2012, 40(6): 127-130.

[16] 吴正红, 朱延勤, 严汉英, 等. 葛根素的溶解性及高分子聚合物助溶作用的研究[J]. *江苏药学与临床研究*, 1999, 7(1): 9-11.

[17] 王 成, 刘玉玲, 谷士杰. 葛根素的溶解性及其络合剂助溶的研究[J]. *中国药学杂志*, 1993, 28(5): 294-296.

[18] 施跃锦. Fenton 反应的应用及其影响因素的研究[J]. *贵州化工*, 2009, 34(2): 30-34.

[19] 文 镜, 贺素华, 杨育颖, 等. 保健食品清除自由基作用的体外测定方法和原理[J]. *食品科学*, 2004, 25(11): 190-195.

[20] 韩少华, 朱靖博, 王妍妍. 邻苯三酚自氧化法测定抗氧化活性的方法研究[J]. *中国酿造*, 2009(6): 155-157.

[21] 高 远, 吕邵娃, 孙 爽, 等. 提高葛根素生物利用度的研究进展[J]. *中医药学报*, 2012, 40(6): 127-130.

[22] 陈 训, 段林东, 赵良忠. 葛根全原粉中葛根素的提取工艺研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(36): 13018-13020.

[23] 张 曦, 李雪峰, 戴宛蓉. 葛根提取物的抗氧化性研究[J]. *广东化工*, 2013, 40(21): 65-66, 78.

[24] Higuchi A, Shirano K, Harashima M, *et al*. Chemically modified polysulfone hollow fibers with vinylpyrrolidone having improved blood compatibility[J]. *Biomaterials*, 2002, 23(13): 2659-2666.

[25] Siebert K J, Lynn P Y. Comparison of polyphenol interactions with polyvinylpolypyrrolidone and haze-active protein[J]. *J Am Soc Brew Chem*, 1998, 56(1): 24-31.

[26] Tantishaiyakul V, Kaewnopparat N, Ingkatawornwong S. Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone [J]. *Int J Pharm*, 1999, 181(2): 143-151.

[27] Craig D Q. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers[J]. *Int J Pharm*, 2002, 231(2): 131-144.

苓甘五味姜辛汤水煎煮工艺的优化

韩燕全¹, 孙方方^{1,2#}, 冉 嫻^{1,2}, 宋 燕^{1,2}, 潘凌宇^{1,2}, 洪 燕^{2*}

(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽中医药大学, 中药复方重点实验室, 安徽 合肥 230031)

摘要: **目的** 优化苓甘五味姜辛汤水煎煮工艺。 **方法** 以加水量、浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数为影响因素, 总酚酸、甘草苷、甘草酸单铵盐、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素含有量及浸膏得率为评价指标, 正交试验优化水煎煮工艺。 **结果** 最佳条件为加 12 倍量水浸泡 50 min 后煎煮 2 次, 每次 40 min, 总酚酸、甘草苷、甘草酸单铵盐、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素含有量分别为 17.54、0.059 7、0.152 5、0.003 7、0.003 7、0.009 4 mg/g, 浸膏得率 16.10%, 综合评分 99.16。 **结论** 该方法稳定、简便、可靠, 可用于水煎煮苓甘五味姜辛汤。

关键词: 苓甘五味姜辛汤; 水煎煮工艺; 正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)11-2436-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.015

收稿日期: 2018-07-09
基金项目: 国家中医药管理局临床中药学重点学科建设项目 (国中医药人教发 [2012] 32); 安徽省自然科学基金项目 (1708085MH196); 安徽省卫生计生委中医药科研课题 (2016zy03)
作者简介: 韩燕全 (1978—), 男, 副主任药师, 硕士生导师, 研究方向为中药炮制与质量控制。Tel: 13155194913, E-mail: hyquan2003@163.com

孙方方 (1991—), 女, 硕士生, 研究方向为中药炮制与质量控制。Tel: 18156992609, E-mail: 690229071@qq.com
* 通信作者: 洪 燕 (1975—), 女, 副教授, 研究方向为中药药理学。E-mail: hyan2003@163.com