

蛇床子中蛇床子素的提取及检测方法的研究

宋伟丰

(黑龙江省农业科学院 农药应用研究中心,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为探索蛇床子素的提取检测方法,通过正交试验方法对蛇床子素的提取工艺进行优化研究。结果表明:蛇床子的最佳提取工艺为用5倍量95%乙醇55℃水浴震荡提取3次,每次3h,提取量为8.463 mg·g⁻¹。该研究建立了蛇床子素的高效液相色谱法检测方法,色谱条件:流动相,色谱甲醇:水(60:40);柱温35℃;紫外检测器检测波长322 nm;进样量10 μL;流速1.0 mL·min⁻¹。该方法能够准确地对蛇床子素进行定性和定量检测。

关键词:高效液相色谱;蛇床子;蛇床子素

中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2013)02-0104-02

多种研究表明,蛇床子的提取物对大豆尖孢镰刀菌有抑制作用^[1-2],而提取物中的主要成分是蛇床子素^[3],因此通过检测提取物中蛇床子素的含量可以判断提取方法是否适当^[4]。通过4因素3水平的正交表设计试验,对蛇床子素的提取方法进行优化^[5],这将对蛇床子素的提取及检测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 主要仪器有高效液相色谱仪(Waters 2487 紫外检测器,515Pump)、分析天平、水浴锅、超声波清洗器、高速离心机和高压灭菌器。

1.1.2 试剂与药品 乙醇(分析纯)、甲醇(色谱纯)、蛇床子素(分析纯)、蛇床子药材(市售)。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线的绘制及线性范围的确定 准确称取蛇床子素标准品2 mg,用色谱甲醇定容于25 mL容量瓶中,相当于80 μg·mL⁻¹浓度,作为母液。再稀释得终浓度为5、10、20和40 μg·mL⁻¹的标准溶液,连同母液分别用高效液相色谱进行检测,以平均峰面积对相应浓度作线性回归,即得标准曲线,根据相关系数的大小评价定量方法的线性范围。

1.2.2 精密度的测定 配制含蛇床子素浓度为5、10和40 μg·mL⁻¹的标准溶液,用高效液相色谱检测,每个样品在1 d内检测3次,计算日内变异

系数。每个样品每天检测1次,连续3 d,根据结果计算日间变异系数。

1.2.3 蛇床子素的提取 采用正交试验,对提取方法进行优化(见表1)。

1.2.4 验证试验 根据正交试验得出的最佳提取方法,采用相同条件进行试验,验证蛇床子素提取是否最佳。

表1 蛇床子正交试验设计
Table 1 Orthogonal experiment design of *Frutus cnidii*

水平 Level	A 温度/℃ Temperature	B 时间/h Time	C 乙醇浓度/% Alcohol concentration
1	35	1	45
2	45	2	75
3	55	3	95

1.2.5 高效液相色谱条件 色谱甲醇:水(60:40);柱温35℃;紫外检测器检测波长322 nm;进样量10 μL;流速1.0 mL·min⁻¹^[6]。

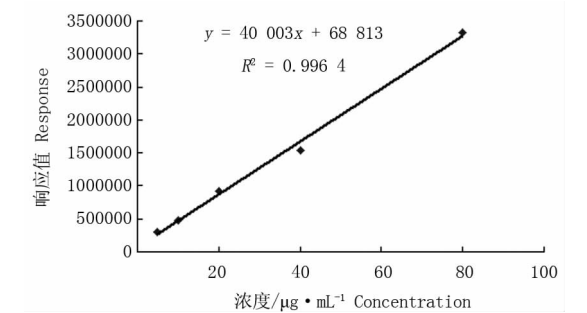


图1 蛇床子素标准曲线

Fig. 1 Standard curve of osthole

收稿日期:2012-11-28

作者简介:宋伟丰(1982-),男,黑龙江省甘南县人,硕士,助理研究员,从事植物保护研究。E-mail: songweifeng2000@163.com。

2 结果与分析

2.1 标准曲线方程及线性范围

由图 1 可以看出,蛇床子素在 5~80 μg·mL⁻¹ 时呈良好的线性响应。

2.2 变异系数

由表 2 可以看出,该方法标准品日内变异系数小于 3%,日间变异系数小于 4%。表明该方法可以准确测定样品中的蛇床子素的含量。

2.3 蛇床子正交试验直观分析

由验证试验得出,蛇床子素的最佳提取工艺为 A₃B₃C₃。通过验证,在 A₃B₃C₃ 条件下,即用 5

倍量 95%乙醇 55℃水浴震荡提取 3 次,每次 3 h,蛇床子素的提取量为 8.463 mg·g⁻¹,效果最好。

表 2 加标样品的精密度
Table 2 Precision of sample with standard preparation

浓度/μg·mL ⁻¹ Concentration	日内变异系数/% Intradaycoefficient of variation in a day	日间变异系数/% Variation coefficient between days
5	1.72±1.23	1.56±0.09
10	2.57±1.13	3.17±1.21
40	2.14±1.04	3.46±2.14

表 3 蛇床子的正交试验结果
Table 3 Orthogonal experimental results of *Frutus cnidii*

处理 Treatment	A 温度/℃ A Temperature	B 时间/h B Time	C 乙醇浓度/% C Alcohol concentration	提取量/mg·g ⁻¹ Extraction amount
1	35	1	45	1.426
2	35	2	75	1.213
3	35	3	95	6.965
4	45	1	75	1.024
5	45	2	95	6.895
6	45	3	45	2.237
7	55	1	95	8.102
8	55	2	45	2.103
9	55	3	75	2.319
K ₁	3.201	3.517	1.922	
K ₂	3.385	3.404	1.519	
K ₃	4.175	3.840	7.321	
R	0.974	0.436	5.802	

3 结论

该研究建立了一种准确、快速检测蛇床子素的方法,高效液相色谱条件为流动相:甲醇与水体积比为 80:20;检测波长为 322 nm;流速 1 mL·min⁻¹;进样量 10 μL;柱温 35℃。通过正交试验筛选,确定了蛇床子的最佳提取工艺为用 5 倍量 95%乙醇 55℃水浴震荡提取 3 次,每次 3 h,提取量为 8.463 mg·g⁻¹。

参考文献:

[1] 丁健,于文明,于德泉,等. 中国药典[M]. 北京,中国医药科

技出版社,2000(附录):37.
[2] 杨小红,李斯明,马福广. 复方蛇床子水剂杀菌效果的研究[J]. 广州医药,1997,28(5):14-15.
[3] 王彬,王宏珉,廖辉. 蛇床子延缓衰老的药理学研究[J]. 中药药理与临床,1994(1):8-12.
[4] 张晓霞,周卯星,张高勇,等. 高效液相色谱法测定蛇床子萃取物中的蛇床子素[J]. 日用化学工业,2006,36(6):395-397.
[5] 张长滨,陈祥胜,周玮. 蛇床子提取工艺优选[J]. 中国药师,2004,7(9):716-718.
[6] 李社花,何继祥,程静,等. 反相高效液相色谱法测定妇安肤灵洗液中蛇床子素的含量[J]. 药物分析杂志,2002,22(3):242-243.