

女贞子连续超声逆流提取工艺优选

张静*, 陈红专, 董立彬, 王海亮

(石家庄以岭药业股份有限公司, 石家庄 050035)

[摘要] 目的: 优选女贞子的连续超声逆流提取工艺。方法: 以齐墩果酸和熊果酸总量为指标, 通过正交试验考察超声频率、乙醇体积分数、料液比和温度对提取工艺的影响。采用 HPLC 测定齐墩果酸和熊果酸含量, 流速 $0.33 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 流动相乙腈-甲醇-0.5% 冰醋酸溶液 (19:67:14)。结果: 最佳提取工艺为加 15 倍量 80% 乙醇于 30 kHz 提取; 齐墩果酸和熊果酸平均总质量分数 5.66%, RSD 1.64%。结论: 优选的连续超声逆流提取工艺操作简单、科学合理, 适合于女贞子工业化大生产。

[关键词] 女贞子; 连续超声逆流法; 齐墩果酸; 熊果酸

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0016-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130016

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1503.006.html>

[网络出版时间] 2014-05-13 15:03

Optimization of Successive Ultrasound Countercurrent Extraction Technology of Ligustri Lucidi Fructus

ZHANG Jing*, CHEN Hong-zhuan, DONG Li-bin, WANG Hai-liang

(Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co. Ltd, Shijiazhuang 050035, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize successive ultrasound countercurrent extraction process of Ligustri Lucidi Fructus. **Method:** Taking total amount of oleanolic acid and ursolic acid as index, orthogonal design was adopted to investigate effects of ethanol concentration, ultrasonic frequency, solid-liquid ratio and temperature on extraction process of Ligustri Lucidi Fructus. ELSD was employed to determine contents of oleanolic acid and ursolic acid with mobile phase of acetonitrile-methanol-0.5% acetic acid (19:67:14) and flow rate of $0.33 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. **Result:** Optimum extraction process was that extracted with 15 times the amount of 80% ethanol at 30 kHz; under these conditions, average total amount of oleanolic acid and ursolic acid was 5.66% with RSD of 1.64%. **Conclusion:** This optimized extraction technology was reasonable and scientific, which was suitable for large scale production of Ligustri Lucidi Fructus.

[Key words] Ligustri Lucidi Fructus; successive ultrasound countercurrent; oleanolic acid; ursolic acid

女贞子具有滋补肝肾、明目乌发之功效, 临床用于肝肾阴虚、眩晕耳鸣、腰膝酸软、须发早白等症^[1], 主要化学成分包括三萜类、黄酮类、裂环烯醚萜类和苯乙醇苷类等^[2], 其中以齐墩果酸和熊果酸为代表。目前, 女贞子的提取一般采用醇提

法^[3]、水提醇沉法^[4]等, 均存在时间长、溶媒用量大、提取效率低等问题; 改用超声波法^[5]可增加提取效率, 但仅限于实验室小试。本实验采用连续超声逆流提取, 以齐墩果酸和熊果酸总量为指标, 通过正交试验优选生产过程主要控制参数, 为女贞子资源的开发利用提供参考。

1 材料

GTC-TQ/3/C2N1 型超声逆流提取成套设备 (济宁金百特工程机械有限公司), 2695 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), 500 型蒸发光散射检测器

[收稿日期] 20140121(014)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2011ZX09401-306)

[通讯作者] * 张静, 硕士, 工程师, 从事新药研发与申报工作, Tel: 0311-85901749, E-mail: fr45_419@126.com

(美国 Alltech 公司),AG135 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。女贞子药材购于石家庄以岭药业饮片厂,经河北省食品药品检验院中药室孙宝惠主任药师鉴定为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实;齐墩果酸、熊果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110709-200505,110742-200516),乙腈、甲醇为色谱纯,水为自制重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 齐墩果酸、熊果酸的含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 30 °C,流速 0.33 mL·min⁻¹,流动相乙腈-甲醇-0.5% 冰醋酸溶液(19:67:14)。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取齐墩果酸和熊果酸对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含齐墩果酸 0.1 mg 和含熊果酸 0.06 mg 的混合溶液,摇匀,即得。

2.1.3 供试品溶液制备 精密称取女贞子提取物约 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,超声处理(400 W, 40 kHz)40 min,放冷,称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得。

2.1.4 线性关系 精密吸取对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μL,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以进样量的自然对数值为纵坐标,峰面积的自然对数值为横坐标,得齐墩果酸、熊果酸回归方程依次为 $Y = 0.8369X - 7.3216$ ($r = 0.9999$), $Y = 0.7476X - 8.6572$ ($r = 0.9999$),线性范围分别为 0.4 ~ 2, 0.24 ~ 1.2 μg。

2.1.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算齐墩果酸和熊果酸峰面积的 RSD 分别为 1.12%, 1.57%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 4, 8, 12, 24 h 进样,按 2.1.1 项下色谱条件测定峰面积,计算齐墩果酸和熊果酸的 RSD 分别为 0.78%, 1.41%,表明供试品溶液在 24 h 内较稳定。

2.1.7 重复性试验 取同批女贞子提取物,按 2.1.3 项下方法制备 6 份供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算齐墩果酸和熊果酸含量的 RSD 分别为 1.54%, 1.73%。

2.1.8 回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份,精密加入一定量齐墩果酸和熊果酸对照品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,测定齐墩果酸和

熊果酸总量,计算平均回收率分别为 99.7%, 101.4%, RSD 依次为 1.98%, 1.57%。

2.2 超声逆流提取工艺优选 称取女贞子药材 20 kg,共 9 份,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,提取液减压浓缩,转移至锈钢盘中,真空干燥至恒重,得提取物。根据连续超声逆流提取设备生产实际情况,选择超声频率、乙醇体积分数、料液比和提取温度为考察因素,每个因素设定 3 个水平,以熊果酸和齐墩果酸总质量分数为指标,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 女贞子超声逆流提取工艺正交试验因素水平

	A	B	C	D
水平	超声频率 /kHz	乙醇体积 分数/%	料液比	提取温度 /°C
1	20	70	1:10	20
2	30	80	1:15	40
3	40	90	1:20	60

表 2 女贞子超声逆流提取工艺正交试验安排及直观分析 %

No.	A	B	C	D	齐墩果酸	熊果酸	总质量分数
1	1	1	1	1	3.22	1.14	4.36
2	1	2	2	2	3.54	1.75	5.29
3	1	3	3	3	3.58	1.62	5.20
4	2	1	2	3	3.85	1.63	5.48
5	2	2	3	1	3.93	1.87	5.80
6	2	3	1	2	3.84	1.70	5.54
7	3	1	3	2	3.15	1.07	4.22
8	3	2	1	3	3.35	1.33	4.68
9	3	3	2	1	3.52	1.25	4.77
K ₁	14.85	14.06	14.58	14.93			
K ₂	16.82	15.77	15.54	15.05			
K ₃	13.67	15.51	17.19	15.36			
R	1.050	0.570	0.320	0.143			

表 3 熊果酸和齐墩果酸总质量分数方差分析

方差来源	SS	F	P
A	1.688	51.152	<0.05
B	0.566	17.152	>0.05
C	0.159	4.818	>0.05
D(误差)	0.033	1.000	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $A > B > C > D$ 。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果表明因素 A 具有显著性差异,其他因素则无显著性影响,确定最佳提取方案是

多指标综合评分法优选制何首乌的 β -环糊精辅助提取工艺

崔明磊,任晓亮*,刘亚男,邱喜龙,戚爱棣
(天津中医药大学,天津 300193)

[摘要] 目的:优选制何首乌的 β -环糊精(β -CD)辅助提取工艺。方法:采用层次分析法,以二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚转移率的综合评分为指标,通过正交试验考察 β -CD用量、料液比、提取次数及时间对制何首乌有效成分提取工艺的影响。采用HPLC测定二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚含量,流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱(0~5 min,15%~25% A;5~12 min,25%~30% A;12~15 min,30%~60% A;15~20 min,60% A;20~25 min,60%~75% A;25~31 min,75%~77% A),检测波长320(二苯乙烯苷),254 nm(大黄素、大黄素甲醚)。结果:最佳工艺条件为 β -CD加入量10%,加10倍量水提取3次,每次1 h;二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚转移率分别为90.19%,8.39%,0.76%。结论:与传统水提法相比, β -CD辅助提取法能显著提高活性成分转移率。

[关键词] β -环糊精;制何首乌;层次分析法;二苯乙烯苷;大黄素;大黄素甲醚

[中图分类号] R282.4;R282.71;R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0018-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130018

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1505.007.html>

[网络出版时间] 2014-05-13 15:05

[收稿日期] 20131012(009)

[基金项目] 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20111210110010,20111210120006)

[第一作者] 崔明磊,硕士,从事药物分析研究,Tel:15222522371,E-mail:linercuiminglei@163.com

[通讯作者] *任晓亮,博士,讲师,从事药物分析研究,Tel:022-59596221,E-mail:xiaoliang_ren@sina.com

$A_2B_2C_2D_3$,即加15倍量80%乙醇于30 kHz,60℃提取。

2.3 验证试验 通过试验分析,发现提取温度影响不大且较难控制,故实际生产中不需要加热,确定女贞子超声逆流提取工艺为超声频率30 kHz,乙醇体积分数80%,料液比1:15。称取女贞子药材3份,每份200 kg,按该条件进行3次验证试验,结果齐墩果酸和熊果酸平均总质量分数5.66%,RSD 1.64%,表明优选的提取工艺稳定可行。

3 讨论

2010年版《中国药典》中大多数药材的有效成分含量测定均采用超声法处理样品,但该方法主要停留在实验室少量样品处理上,且超声处理条件单一。连续超声逆流法可大大提高有效成分提取效率,而且提取过程操作简单,溶媒用量较传统提取少,尤其适合提取热敏感成分,但提取设备对药材的粒度要求较严格,女贞子药材大小较为合适,不需要

进行粉碎处理,进料采用真空上料机,能稳定进料速度以控制工艺参数。本文采用中试条件进行数据摸索,并通过放大试验证实了女贞子连续超声逆流提取的有效性和可靠性。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:43.
- [2] 黄晓君,沈文斌. 女贞子的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(7):861.
- [3] 郭宇洁,任焯,葛争艳,等. 正交试验法比较女贞子中齐墩果酸与特女贞苷的乙醇提取工艺[J]. 中成药,2013,35(2):277.
- [4] 文廷刚,杜小凤,郭宇,等. 女贞子总黄酮的测定及其提取工艺[J]. 江苏农业科学,2008(2):187.
- [5] 郭留城,杜利月. 女贞子超声波提取工艺研究[J]. 中医临床杂志,2009,21(3):262.

[责任编辑 刘德文]