

动态优化法在天麻提取工艺优化中的应用

肖慧^{1,2}, 王跃生^{1,2}, 陈莎¹, 章军¹, 刘安^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] **目的:**探讨采用动态优化法优选天麻提取工艺的可行性。**方法:**以天麻素、巴利森苷提取量为评价指标,通过正交试验考察溶剂用量、提取次数及时间对天麻提取工艺的影响;在正交试验基础上,采用动态优化法优选天麻提取工艺,比较2种优选工艺提取液中天麻素和巴利森苷含量、浸膏得率、指纹图谱相似度的差异。**结果:**正交试验优选的提取工艺为加8倍量50%乙醇回流提取3次,每次2h;天麻素、巴利森苷提取量分别为 $0.50, 1.44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。动态优化法的最佳提取工艺为加8倍量50%乙醇提取3次,提取时间分别为80, 40, 20 min;天麻素、巴利森苷提取量分别为 $0.43, 1.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。提取物中指标成分含量和浸膏得率的相对偏差均 $< 2\%$;指纹图谱相似度100%;但与正交设计工艺相比,动态优化工艺时间节约67%,耗电量下降62%。**结论:**动态优化工艺在保证天麻提取物与正交设计结果一致的基础上,大幅度减少提取时间,降低耗能,节约生产成本,值得推广。

[关键词] 动态优化法; 天麻; 天麻素; 巴利森苷; 指纹图谱相似度

[中图分类号] R283.6; R282.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0035-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200035

Application of Dynamic Optimization Extraction Method in Extraction Process of Gastrodiae Rhizoma

XIAO Hui^{1,2}, WANG Yue-sheng^{1,2}, CHEN Sha¹, ZHANG Jun¹, LIU An^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate feasibility of dynamic optimization extraction method (DOEM) in extraction process of Gastrodiae Rhizoma. **Method:** Extraction amounts of gastrodin and parishin were regarded as indexes, based on single factor test, orthogonal design was adopted to optimize extraction process of Gastrodiae Rhizoma with solvent amount, extracting time and times as factors. Based on orthogonal design, DOEM was employed to optimize extraction condition, then extraction effects of these two processes were compared by contents of marker components, extract yield and similarity evaluation of fingerprint. **Result:** Optimum extraction process of orthogonal design was as follows: extracting for thrice with 8-folds of 50% ethanol, 2 hours each time; contents of gastrodin and parishin were $0.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $1.44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Extraction technology of DOEM was as follows: extracting for 3 times with 8-folds of 50% ethanol, extracting time of 80, 40, 20 minutes; contents of gastrodin and parishin were $0.43 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $1.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Relative deviations of marker components contents and total solids yield in these two processes were less than 2% with a 100% of similarity in fingerprint, indicating basic coincidence between extracts by these two processes. DOEM could save 67% of extraction time and 62% of power consumption. **Conclusion:** Extracts of these two methods are no difference, DOEM can significantly reduce

[收稿日期] 20140329(005)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2011BAI13B04);贵州省重大专项(黔科合重大专项字[2011]6005);贵阳市重大专项(筑科合同[2011401]社6-1号)

[第一作者] 肖慧, 硕士, 从事中药制剂工艺及质量评价标准研究, Tel: 010-64030267, E-mail: koala_522@163.com

[通讯作者] * 刘安, 硕士生导师, 研究员, 从事中药化学研究, Tel: 010-64030267, E-mail: La62@163.com

extraction time and production costs, which means it is worth spreading in traditional Chinese medicine industry.

[Key words] dynamic optimization extraction method; *Gastrodia Rhizoma*; gastrodin; parishin; fingerprint similarity

中药制药过程一般包括提取、分离、浓缩、干燥和制剂等环节,其中提取过程是中药制药的关键环节之一,影响着最终产品的质量和成本。理想的中药提取工艺除有效成分提取效率高、工艺稳定、操作简便外,提取时间与耗能也是应该重点考虑的因素^[1]。常用的提取工艺设计包括正交设计、均匀设计、效应面法、星点设计等,其中正交设计应用最为广泛^[2]。但在中药提取工艺正交试验设计中考虑的重点是有效成分提取率,而忽略对提取时间的优化,造成时间与成本的浪费。提取工艺动态优化方法是课题组提出的一种新提取工艺优化方法^[3],与正交设计相比,该工艺能大幅度减少提取时间、节约电能、降低成本,尤其适合应用于中药大品种、名贵中药及有效成分不稳定的中药材提取工艺优化。

天麻主产于贵州、四川、云南、安徽等地^[4-5],具有镇静、镇痛、安眠和神经保护作用^[6-7]。目前已从天麻中分离出酚酸类、核苷酸类、氨基酸类等化学成分^[8-10],其中酚酸类成分被视为主要活性成分,代表性成分为天麻素、巴利森苷及其衍生物^[8]。研究显示巴利森苷在天麻中含量不稳定,在加热过程中,易发生降解反应,导致含量发生变化^[11-12]。故本实验拟采用动态优化法优选天麻的提取工艺,为有效成分不稳定的中药材提取工艺分析提供参考。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(LC-20AT 型四元梯度泵, DGU-20A 型在线脱气系统, SIL-20A 型自动进样系统, CTO-20A 型柱温箱, SPD-M20A 型二极管阵列检测, 日本岛津公司), BT25S 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司), DDS1334 型单相电子式电能表(青岛电能电度有限公司)。天麻饮片购自北京仟草中药饮片有限公司,批号 130617008,经中国中医科学院中药研究所程明副研究员鉴定为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎;天麻素对照品(批号 0807-9702,中国食品药品检定研究院),巴利森苷对照品(自制,经 HPLC 按面积归一化法测定纯度 $\geq 98\%$),乙腈、甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 天麻素和巴利森苷的含量测定

2.1.1 混合对照品溶液的制备

精密称取天麻素 44.48 μg 和巴利森苷 203.30 μg 的混合溶液。

2.1.2 色谱条件^[13] Kromasil 100-5 C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 流动相 0.05% 甲酸(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 8 min, 2% B; 8 ~ 21 min, 2% ~ 8% B; 21 ~ 30 min, 8% ~ 12% B; 30 ~ 47 min, 12% ~ 25% B), 检测波长 270 nm, 流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 提取溶剂选择 精密称取天麻粗粉 10 g, 共 6 份, 分别加入 10 倍量水、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇, 称重, 加热回流提取 2 h, 放至室温, 加相应提取溶剂补足减失的质量, 过滤, 得提取液。精密量取提取液 10 mL, 浓缩至近干, 加 2% 乙腈溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加 2% 乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 得供试品溶液^[13]。按 2.1.2 项下色谱条件测定, 结果天麻素得率依次为 1.20%, 0.57%, 0.56%, 0.42%, 巴利森苷得率依次为 0.12%, 0.56%, 0.51%, 0.34%, 浸膏得率分别为 42.85%, 16.53%, 15.45%, 11.03%。表明在其他条件不变的情况下, 选择 30% 乙醇时, 天麻素和巴利森苷得率最高, 之后随乙醇体积分数增大, 两者的得率均降低; 但在一定范围内, 提取溶液中乙醇比例越高, 越能抑制药材中淀粉的溶出, 有利于后续处理, 故选择 50% 乙醇作为提取溶剂。

2.3 正交试验设计 在预试验基础上, 以天麻素、巴利森苷提取量为评价指标, 选择溶剂用量、提取次数、提取时间为考察因素, 精密称取天麻饮片粗粉 15 g, 共 9 份, 分别置于 250 mL 量瓶中, 称定质量, 按 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.2 项下色谱条件测定天麻素、巴利森苷含量, 试验安排及结果见表 1。由直观分析可知, 各因素对天麻素和巴利森苷提取效果的影响程度一致, 影响顺序均为 $B > C > A$, 选择最佳工艺组合 $A_1B_3C_2$, 即加 8 倍量 50% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h。精密称取天麻药材 15 g, 共 2 份, 按该工艺进行验证试验, 结果天麻素、巴利森苷提取量分别为 0.50, 1.44 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 依次为 3.8%, 2.9%, 表明优选的工艺稳定可行。

表1 天麻提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A 溶剂 用量 /倍	B 提取 数/次	C 提取 时间 /h	D (空白)	天麻素 /mg·g ⁻¹	巴利森苷 /mg·g ⁻¹
	1	8	1	1	1	0.27
2	8	2	2	2	0.42	1.36
3	8	3	3	3	0.48	1.45
4	10	1	2	3	0.39	1.10
5	10	2	3	1	0.41	1.29
6	10	3	1	2	0.39	1.33
7	15	1	3	2	0.27	0.90
8	15	2	1	3	0.38	1.25
9	15	3	2	1	0.44	1.38
天麻素	K ₁	0.39	0.31	0.35	0.37	
	K ₂	0.39	0.40	0.42	0.36	
	K ₃	0.36	0.44	0.39	0.42	
	R	0.03	0.13	0.07	0.06	
巴利森苷	K ₁	1.19	0.92	1.12	1.05	
	K ₂	1.24	1.30	1.28	1.20	
	K ₃	1.17	1.39	1.21	1.27	
	R	0.07	0.47	0.16	0.07	

表2 天麻3次提取各时间点提取液中指标成分含量

t/min	指标成分/g·L ⁻¹					
	第1次提取		第2次提取		第3次提取	
	天麻素	巴利森苷	天麻素	巴利森苷	天麻素	巴利森苷
0	0.097	0.273	0.049	0.124	0.008	0.046
10	0.144	0.400	0.058	0.150	0.010	0.052
20	0.183	0.508	0.066	0.175	0.011	0.054
30	0.219	0.604	0.066	0.179	0.012	0.057
40	0.240	0.668	0.072	0.201	0.012	0.058
50	0.263	0.736	0.070	0.200	0.013	0.059
60	0.278	0.791	0.072	0.215	0.014	0.064
70	0.297	0.852	0.076	0.229	0.013	0.062
80	0.344	0.998	0.074	0.221	0.013	0.047
90	0.321	0.954	0.074	0.232	0.013	0.045
100	0.326	0.984	0.077	0.241	0.013	0.047
110	0.334	1.012	0.074	0.237	0.014	0.050
120	0.341	1.041	0.080	0.250	0.012	0.047
130	0.347	1.078	0.077	0.247	0.014	0.044
140	0.338	1.063	0.080	0.252	0.012	0.044
150	0.344	1.092	0.077	0.240	0.012	0.045
160	0.344	1.095	0.082	0.258	0.013	0.046
170	0.361	1.157	0.084	0.275	0.013	0.046
180	0.376	1.204	0.077	0.268	0.008	0.046

2.4 动态过程提取工艺优化 提取过程中有效成分的含量变化是一个动态过程,根据 Noyes-Whitney 方程可知,随提取时间的延长,提取物含量的变化逐渐减小。特别是对热不稳定成分,当达到某个平衡点后,提取物含量或许会逐渐减小。巴利森苷及其衍生物不稳定,不宜加热时间过长。称取天麻粗粉 200 g,加入 8 倍量 50% 乙醇回流提取 3 h,每隔 10 min 量取提取液 10 mL(18 个点),每次补足相同体积提取溶剂。3 h 后滤过提取液,向药渣中加入 50% 乙醇 1 600 mL,按第 1 次提取过程量取提取液,重复进行 3 次。每次提取过程采集的提取液按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.2 项下色谱条件测定天麻素、巴利森苷含量,结果见表 2 和图 1。由图 1 可知,第 1 次提取 80 min 后,含量变化率基本 <10%;第 2 次提取 40 min 后,含量变化率基本 <10%;因为第 3 次提取时指标成分的含量很低,导致第 3 次的含量变化幅度较大,排除这些误差,发现 20 min 后含量变化率 <10%,故第 3 次选择提取时间 20 min。根据动态优化法,天麻的最佳提取工艺为加 8 倍量 50% 乙醇提取 3 次,提取时间分别为 80,40,20 min。

2.5 优选工艺的提取效果比较 取同批天麻粗粉

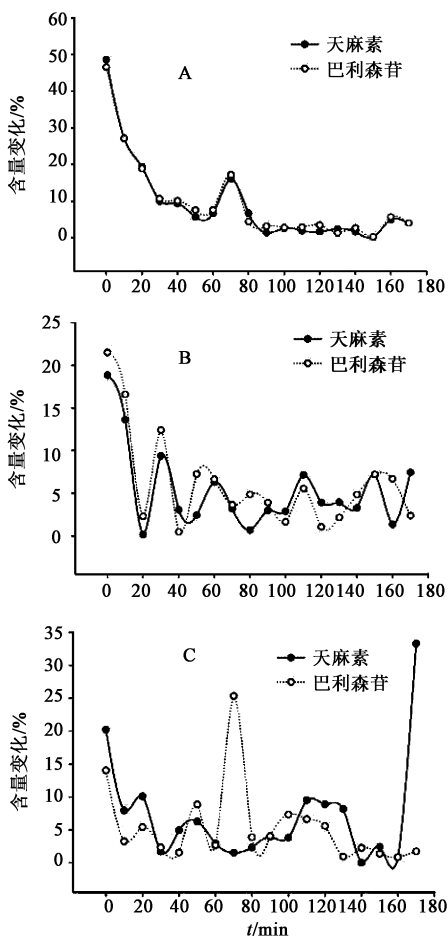
适量,分别按上述 2 种优选工艺进行提取,精密量取 2 种提取液各 2 mL 至 10 mL 量瓶中,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.2 项下色谱条件测定天麻素、巴利森苷含量。精密量取供试品溶液 60 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 ℃ 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算浸膏得率,见表 3。结果发现 2 种提取物的化学成分分布基本一致,见图 2。将色谱数据导入 2004 年 A 版《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》进行相似度分析,结果显示二者相似度 100%。

表3 天麻不同方法优选工艺的提取效果比较(n=3)

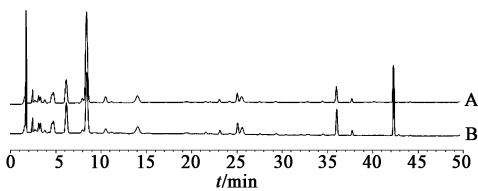
优选方法	天麻素 /mg·g ⁻¹	巴利森苷 /mg·g ⁻¹	浸膏得率 /%	耗能 /kW·h ⁻¹
正交试验	0.42	1.35	16.94	0.84
动态提取法	0.43	1.37	16.85	0.32
RSD/%	1.66	1.04	0.38	

3 讨论

采用不同方法优选工艺的提取液中 2 个指标成分含量、浸出物得率基本一致,RSD 均 <2%,指纹图谱相似度 100%,说明 2 种方法的效果一致,动态过程优化法用于提取工艺的优选是可行的。但在提



A. 第1次提取; B. 第2次提取; C. 第3次提取
图1 3次提取指标性成分各时刻的含量变化



A. 动态提取工艺; B. 正交设计工艺

图2 天麻不同方法优选的工艺提取液 HPLC

取时间上,动态过程优化工艺仅用时 140 min,较正交设计优选工艺节约了 67%。

提取工艺动态优化过程中,考虑到含量测定的准确性,每次量取提取液 10 mL,避免因成分含量过低影响含量测定。同时由于提取溶剂总体积 1 600 mL,每次取 10 mL 提取液,在误差允许范围内。根据 Noyes-Whitney 方程描述,提取物浓度与时间成类似抛物线关系,提取物浓度变化随着时间的延长而逐渐减少,药物溶出达稳态期后,延长提取时间对提取

率无明显影响^[14]。由表 2 和图 1 可知,3 次提取所达稳态期的时间不一样。与正交设计工艺相比能够根据实际浓度变化,准确地判断每次提取的终点,节约提取时间。从工业生产角度分析,动态过程优化工艺能提高提取效率,大幅度节约提取时间,节省人力资源等成本。本文提取天麻饮片 150 g,提取时间节约 67%,耗电量节约 62%,如果将该方法推广到工业生产,带来的经济效益非常可观。

[参考文献]

[1] 刘明言,王帮臣.用于中药提取的新技术进展[J].中草药,2010,41(2):169.

[2] 胡道德,顾磊,姚慧娟,等.中药提取及优化的研究进展[J].医药导报,2009,28(1):80.

[3] 王东喆,章军,张丽艳,等.基于动态过程的提取工艺优化方法研究[J].中国中药杂志,2012,37(10):1388.

[4] 周铨,陈心启.国产天麻属植物的整理[J].云南植物研究,1983,5(4):361.

[5] 郑占虎,董泽宏,余靖.中药现代研究与临床应用.第1卷[M].北京:学苑出版社,1997:885.

[6] Li N, Wang K, Chen J, et al. Phenolic compounds from the rhizomes of *Gastrodia elata* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2007, 9(4): 373.

[7] Huang Z, Wu Z, Chen F, et al. The protective effects of phenolic constituents from *Gastrodia elata* on the cytotoxicity induced by KCl and glutamate [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29(11): 963.

[8] 王莉,肖红斌,梁鑫淼.天麻化学成分研究(I)[J].中草药,2003,34(7):584.

[9] 王莉,王艳萍,肖红斌,等.天麻化学成分研究(II)[J].中草药,2006,37(11):1635.

[10] 王莉,肖红斌,梁鑫淼.天麻化学成分研究(III)[J].中草药,2009,40(8):1186.

[11] 董金波,杨水新.天麻受热干燥过程中天麻素的稳定性探讨[J].浙江实用医学,2004,8(6):380.

[12] 袁胜浩,王东,张香兰,等.天麻中天麻素含量的影响因素研究[J].云南植物研究,2008,30(1):110.

[13] 张秋生,高翔,刘智.一种全天麻胶囊指纹图谱的建立方法及其指纹图谱:中国,201010532518[P].2010-11-05.

[14] 郑颖.片剂溶出速度的理论、估算法与影响因素[J].国外药学,1986,7(1):26.

[责任编辑 刘德文]