

# 纤维素酶协同超声波法提取复方半边莲注射液的工艺优选

陈琼<sup>1\*</sup>, 李丹<sup>2</sup>, 周纪磊<sup>1</sup>

(1. 信阳农林学院生物技术系中药教研室, 河南 信阳 464000;

2. 信阳市食品药品检验所, 河南 信阳 464000)

**[摘要]** **目的:** 优选纤维素酶协同超声波法提取复方半边莲注射液的工艺条件。**方法:** 在超声波条件固定的情况下, 采用正交试验考察酶用量、酶解 pH、酶解时间及酶解温度对复方半边莲注射液中野黄芩苷提取率的影响。采用 HPLC 测定野黄芩苷含量。**结果:** 最佳工艺条件为酶解温度 40 ℃, 酶解 pH 6.0, 酶用量 1 g (6.7 mg·g<sup>-1</sup>), 酶解时间 30 min; 野黄芩苷质量浓度 4.68 g·L<sup>-1</sup>, 明显高于煎煮法 (1.34 g·L<sup>-1</sup>)、单一超声波法 (3.84 g·L<sup>-1</sup>) 和单一纤维素酶法 (2.26 g·L<sup>-1</sup>)。**结论:** 纤维素酶协同超声波法提取复方半边莲注射液具有效率高、生产成本低、生产周期短等优点。

**[关键词]** 纤维素酶; 超声波法; 复方半边莲注射液; 野黄芩苷; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0013-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2014070013

## Optimization of Extraction Technology of Compound Lobelia Injection by Synergistic Action of Cellulase and Ultrasonic Method

CHEN Qiong<sup>1\*</sup>, LI Dan<sup>2</sup>, ZHOU Ji-lei<sup>1</sup>

(1. Traditional Chinese Medicine Research Section, Department of Biotechnology,

Xinyang College of Agriculture and Forestry, Xinyang 464000, China;

2. Xinyang Institute for Food and Drug Control, Xinyang 464000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of compound lobelia injection by synergistic action of cellulase and ultrasonic method. **Method:** Under these established ultrasonic conditions, orthogonal test was adopted to investigate effects of enzyme dosage, enzymolysis time, pH and temperature on yield of scutellarin in compound lobelia injection. The content of scutellarin was determined by HPLC. **Result:** Optimum technology conditions were as follows: enzymolysis temperature at 40 ℃, pH of 6.0, cellulase dosage 1 g (6.7 mg·g<sup>-1</sup>), enzymolysis time 30 min; Under these conditions, the concentration of scutellarin in compound lobelia injection was 4.68 g·L<sup>-1</sup>, which was significantly more than 1.34 g·L<sup>-1</sup> through decocting technology contained in registration standards, 3.84 g·L<sup>-1</sup> through single ultrasonic extraction and 2.26 g·L<sup>-1</sup> through single cellulose extraction. **Conclusion:** Compared with the original extraction method contained in registration standards, synergistic action of cellulase and ultrasonic method had advantages of high extraction efficiency, less production cost and shorter production duration, etc.

**[Key words]** cellulase; ultrasonic method; compound lobelia injection; scutellarin; orthogonal test

复方半边莲注射液为河南同源制药有限公司独

家生产的中药注射液, 由半边莲、半枝莲、白花蛇舌草组成, 具有清热解毒、消肿止痛的功效, 临床用于治疗多发性疖肿、扁桃腺炎、乳腺炎等症<sup>[1]</sup>, 亦可配合化疗用于肿瘤<sup>[2]</sup>, 还可治疗小儿支气管炎、小儿或成人急性呼吸道感染、外感高热等症<sup>[3,4]</sup>。本实验在固定超声条件的前提下, 采用纤维素酶协同

**[收稿日期]** 20131013(012)

**[基金项目]** 信阳农林学院工艺改进校企合作项目(2012005)

**[通讯作者]** \* 陈琼, 高级工程师, 副教授, 从事中药制药、药物制剂新剂型与新技术研究, Tel: 13837666502, E-mail: 599299467@qq.com

提取,通过正交试验优选提取工艺,以显著提高复方半边莲注射液中野黄芩苷含量,为该注射液的工艺改进和剂型改革提供实验依据。

### 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),ST2106 型电磁炉(美的集团),AB-135-S 型和 PB602-S 型电子天平(梅特勒-托利多公司),H1221 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司),101AS-2 型电热恒温干燥箱(上海实验仪器有限公司),200 型板框过滤器(禹州市强国化工设备有限公司),ARF 型安瓿熔封机(郑州玉祥机械设备有限公司)。

半边莲、半枝莲、白花蛇舌草均购自信阳市药材站,经河南同源制药有限公司余运平高级工程师鉴定分别为桔梗科植物半边莲 *Lobelia chinensis* Lour. 的干燥全草,唇形科植物半枝莲 *Scutellaria barbata* D. Don 的干燥全草,茜草科植物白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd. 的干燥全草;野黄芩苷对照品(纯度 > 98%,中国食品药品检定研究院,批号 110842-201106),纤维素酶(北京奥博星生物有限公司),Y-767 型活性炭(溧阳市江阳活性炭厂),水为自制纯化水或注射用水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 药材的预处理** 将半边莲、半枝莲、白花蛇舌草挑拣淘洗,于 105 ℃ 烘干,杀酶,备用。

**2.2 注射液的制备** 按原注册标准提取方法进行制备<sup>[1]</sup>。准确称取半边莲、半枝莲、白花蛇舌草各 50 g,分别加 10,5 倍量水煎煮 2 次,煎煮时间依次为 2,1 h,合并煎液,滤过,滤液浓缩成相对密度 1.15(55 ~ 60 ℃)的清膏,加 95% 乙醇至含醇量 65%,静置 12 h,滤过,滤液加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 调节 pH 8.0 ~ 8.5,静置 1 h,滤过,滤液回收乙醇至无醇味,加注射用水至 50 mL,加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 调节 pH 2.0 ~ 3.0,加活性炭 5 g,搅拌均匀,煮沸 30 min,滤过,滤液加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 调节 pH 6.0,冷藏 24 h,滤过,加 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 调节 pH 6.0 ~ 7.0,加注射用水至 100 mL,灌封,于 100 ℃ 煮沸灭菌 30 min,即得。

**2.3 纤维素酶协同超声波法提取工艺优选** 在前期试验基础上,确定超声条件为功率 400 W,料液比 1:15(第 1 次 10 倍量,第 2 次 5 倍量),超声时间 30 min(第 1 次 20 min,第 2 次 10 min),提取 2 次。选取酶解温度、酶解 pH、酶用量和酶解时间为考察

因素,以野黄芩苷质量浓度为考察指标,准确称取半边莲、半枝莲、白花蛇舌草共 9 份,每份 150 g,加 3 倍量水,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验,补足水至规定量,煮沸,置超声清洗仪中超声提取,清膏的纯化与注射液的制备同原注册标准提取方法,按注册标准含量项下要求测定野黄芩苷含量<sup>[1]</sup>,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 复方半边莲注射液纤维素酶协同超声波法提取工艺正交试验因素水平

水平	A 酶解温度 /℃	B 酶解 pH	C 酶用量 /g	D 酶解时间 /min
1	60	6	1.0	30
2	50	5	2.0	60
3	40	4	3.0	90

表 2 复方半边莲注射液纤维素酶协同超声波法提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	野黄芩苷/g·L <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	1.65
2	1	2	2	2	1.44
3	1	3	3	3	2.07
4	2	1	2	3	1.32
5	2	2	3	1	1.59
6	2	3	1	2	2.16
7	3	1	3	2	2.94
8	3	2	1	3	3.27
9	3	3	2	1	4.56
K <sub>1</sub>	1.72	1.97	2.36	2.60	
K <sub>2</sub>	1.69	2.10	2.44	2.18	
K <sub>3</sub>	3.59	2.93	2.20	2.22	
R	1.90	0.96	0.24	0.42	

表 3 复方半边莲注射液纤维素酶协同超声波法提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	7.108	2	3.554	79.33	<0.05
B	1.627	2	0.814	18.16	>0.05
C(误差)	0.090	2	0.045		
D	0.322	2	0.161	3.58	>0.05

注: F<sub>0.05</sub>(2,2) = 19.0。

由直观分析可知,各因素对野黄芩苷提取率的影响顺序为 A > B > D > C。以极值最小的 C 因素为误差项进行方差分析,表明因素 A 具有显著性影响,其他因素则无显著性影响,结合生产实际考虑,确定最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,即酶解温度 40 ℃,

# 锦灯笼果实提取工艺优选及抗氧化活性考察

宗颖<sup>1,2</sup>, 王志颖<sup>1</sup>, 孙佳明<sup>2\*</sup>, 杜锐<sup>1\*</sup>

(1. 吉林农业大学, 长春 130118; 2. 长春中医药大学, 长春 130117)

**[摘要]** 目的: 优选锦灯笼果实的提取工艺并考察提取物的体外抗氧化活性。方法: 以总黄酮、总酚酸提取量为指标, 通过单因素试验和正交试验考察乙醇体积分数、提取时间及料液比对锦灯笼果实醇提工艺的影响, 考察提取物对 ABTS 自由基的清除能力。结果: 最佳提取工艺为加 20 倍量 85% 乙醇提取 2 次, 每次 0.5 h; 总黄酮和总酚酸平均提取量分别为 0.618、1.152 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 依次为 1.66%、1.19%。结论: 结合药效学试验筛选的提取工艺更加科学合理, 锦灯笼果实具有一定的体外抗氧化能力。

**[关键词]** 锦灯笼果实; 总黄酮, 总酚酸, 提取工艺, ABTS<sup>+</sup>·清除能力; 体外抗氧化活性

**[中图分类号]** R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0015-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070015

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000015.html>

**[网络出版时间]** 2014-01-21 9:13

## Optimization of Extraction Technology for Physalis Calyx Seu Fructus Fruit and Investigation of its Antioxidant Activity

ZONG Ying<sup>1,2</sup>, WANG Zhi-ying<sup>1</sup>, SUN Jia-ming<sup>2\*</sup>, DU Rui<sup>1\*</sup>

**[收稿日期]** 20130724(015)

**[基金项目]** 吉林省教育厅科学技术研究项目(吉教科合字[2012]第50号)

**[第一作者]** 宗颖, 讲师, 从事中药有效成分的开发利用研究, Tel: 13756064817, E-mail: zongying7699@126.com

**[通讯作者]** \* 孙佳明, 副研究员, 从事天然药物化学研究, Tel: 13604404585, E-mail: sun\_jiaming2000@yahoo.com.cn;

\* 杜锐, 教授, 博士, 从事中药物质基础研究, Tel: 13596408198, E-mail: durui71@126.com

酶解 pH 6.0, 酶用量 1 g (6.7 mg·g<sup>-1</sup>), 酶解时间 30 min。按优选的提取工艺进行 3 次验证试验, 结果野黄芩苷平均质量浓度 4.68 g·L<sup>-1</sup> (RSD 0.53%), 较原注册标准提取方法中野黄芩苷 (1.34 g·L<sup>-1</sup>) 含量提高了近 2.5 倍。

**2.4 对比试验** 在相同试验条件下, 运用煎煮法、单一超声波法、单一纤维素酶、纤维素酶协同超声波法分别对复方半边莲注射液中野黄芩苷进行 3 次提取, 结果野黄芩苷含量纤维素酶协同超声波法较原注册标准的煎煮法高 249.3%, 较单一超声波法高 21.9%, 较单一纤维素酶法高 107.1%, 说明纤维素酶协同超声波法可显著提高复方半边莲注射液中野黄芩苷提取率。

### 3 讨论

复方半边莲注射液原煎煮工艺存在提取周期长、有效成份损失大的缺点, 而纤维素酶协同超声波

法与原注册标准中煎煮法相比, 野黄芩苷含量高近 2.5 倍, 而且提取时间由原来 3 h 缩短至 1 h, 大大缩短了生产周期。本文是在实验室条件进行注射液制备, 除含量符合规定外, 性状、鉴别、可见异物、无菌等亦均符合规定, 但未对其热原进行检查。

### [参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: WS-10609(ZD-0609)-2002.
- [2] 王守英. 复方半边莲注射液定性定量标准研究[J]. 中外健康文摘: 医药月刊, 2007(11): 210.
- [3] 石磊, 姬志强, 康文艺. 复方半边莲注射液的临床应用[J]. 中国药房, 2011, 22(47): 4508.
- [4] 吕辉文, 许培玲. 复方半边莲注射液治疗小儿急性呼吸道感染疗效观察(附 98 例分析)[J]. 福建医药杂志, 2011, 33(5): 123.

[责任编辑 全燕]