

紫草总萘醌的闪式提取工艺优选

曾祖平^{1*}, 钱珊², 王宏¹, 彭冰¹, 韩旭阳¹, 李萍¹

(1. 首都医科大学附属北京中医医院北京市中医研究所, 北京 100010;
2. 北京中医药大学东方学院, 河北 廊坊 065001)

[摘要] **目的:** 优选紫草中总萘醌的闪式提取工艺。**方法:** 以紫草总萘醌和 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁转移率为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验考察溶剂用量、提取时间、提取电压对闪式提取工艺的影响, 并与渗漉法进行比较。**结果:** 最佳提取工艺为分别加 14, 8 倍量 95% 乙醇于 140 V 电压下提取 2 次, 每次 2 min; 总萘醌和 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁平均转移率分别为 90.72%, 70.68%。渗漉法中总萘醌和 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁平均转移率分别为 79.03%, 65.43%。**结论:** 闪式提取法优于渗漉法, 前者适用于紫草总萘醌的提取, 优选的工艺稳定可行, 具有良好的应用前景。

[关键词] 紫草; 闪式提取; 正交试验; 紫外-可见分光光度; 高效液相色谱; 紫草总萘醌; β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁

[中图分类号] R283.6, R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0029-03

[doi] 10.11653/syfy2013150029

Optimization of Smashing Tissue Extraction Technology of Total Naphthaquinones in *Arnebia euchroma*

ZENG Zu-ping^{1*}, QIAN Shan², WANG Hong¹, PENG Bing¹, HAN Xu-yang¹, LI Ping¹

(1. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM), Beijing Hospital of TCM, Capital Medical University, Beijing 100010, China;

2. Dongfang College, Beijing University of Chinese Medicine, Langfang 065001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize smashing tissue extraction technology of total naphthaquinones in *Arnebia euchroma*. **Method:** With transfer rates of total naphthaquinones and β, β' -dimethylacrylalkannin as evaluation indexes, $L_9(3^4)$ orthogonal design was adopted for investigating effect of the amount of solvent, extraction time and voltage on smashing tissue extraction technology, and compared with percolation method. **Result:** Optimum extraction conditions were as follows: extracted 2 times with 14, 8 folds the amount of 95% ethanol at 140 V, 2 minutes per time. Transfer rates of total naphthaquinones and β, β' -dimethylacrylalkannin were 90.72% and 70.68%, but they were 79.03% and 65.43% with percolation method, respectively. **Conclusion:** Smashing tissue extraction method was better than percolation method, the former was suitable for extracting total naphthaquinones in *A. euchroma*, this optimized technology was stable and feasible with good application prospects.

[Key words] *Arnebia euchroma*; smashing tissue extraction; orthogonal test; UV-VIS spectrophotometry; HPLC; total naphthaquinones; β, β' -dimethylacrylalkannin

[收稿日期] 20130312(012)

[基金项目] 北京市中医药科技提升专项(KJTS2011-07)

[通讯作者] * 曾祖平, 硕士, 主任药师, 从事中药制剂及中药成分分析研究, Tel: 010-52176919, E-mail: zzp600@sohu.com

紫草具有清热凉血、活血解毒、透疹消斑之功效^[1]。萘醌类成分是紫草中主要生物活性成分, 具有抗炎、解热、镇痛、免疫调节等作用^[2]。该类成分脂溶性强, 易溶于石油醚、三氯甲烷, 可溶于植物油、乙醇, 具有热不稳定性, 多选用高体积分数乙醇提取, 常用

方法包括回流法^[3]、温浸法^[3]、渗漉法^[4]等。

闪式提取技术巧妙地结合了剪切、真空、渗透、流体动力等原理,利用高速剪切力和搅拌力将药材粉碎至细微颗粒,并在局部负压渗透作用下使组织内有效成分迅速达到溶解平衡,实现高效提取的目标,具有快速、常温提取、节能降耗、安全等优点^[5],适合紫草萘醌类成分的提取要求。本实验以紫草总萘醌和 β,β' -二甲基丙烯酰阿卡宁转移率为评价指标,通过正交试验优选紫草总萘醌的闪式提取工艺,并与传统的渗漉法进行比较,为紫草总萘醌的提取开辟新途径,同时为紫草制剂的开发提供依据。

1 材料

JHBE-50T 型闪式提取控制器(刀头内径 1.3 cm,河南金鼎科技发展有限公司),DU-800 型紫外分光光度计(美国贝克曼库尔特公司),1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),XS205 超越系列专业型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),滤头(0.45 μm ,德国 Membrana 公司)。

紫草饮片(产地新疆,购自北京本草方源药业有限公司,经首都医科大学附属北京中医医院李兆福副主任药师鉴定为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst. 的干燥根),左旋紫草素、 β,β' -二甲基丙烯酰阿卡宁对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 769-9803,111689-200501),甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

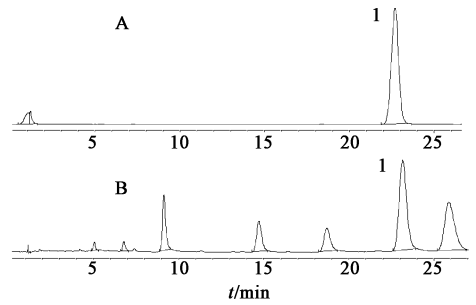
2.1 提取液的制备 称取紫草最粗粉(10 目)20 g,加一定量 95% 乙醇浸泡 30 min,于一定电压下闪式提取一定时间,静置 15 min,滤过,滤液置于 500 mL 量瓶中;滤渣加 8 倍量 95% 乙醇浸泡 15 min,于一定电压下闪式提取一定时间,静置 15 min,滤过,合并 2 次滤液,用 95% 乙醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2 含量测定

2.2.1 紫草总萘醌^[1] 精密量取提取液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中,加 95% 乙醇定容至刻度,摇匀。照紫外-可见分光光度法,于 516 nm 处测定吸光度(A),按左旋紫草素的吸收系数 242 测定提取液中总萘醌含量,计算紫草总萘醌转移率^[1]。

2.2.2 β,β' -二甲基丙烯酰阿卡宁^[9] 色谱条件为 Kromasil 100-5 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-水-甲酸(700:300:0.5),流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长 275 nm,柱温室温,进样量 10 μL 。理论板数按 β,β' -二甲基丙烯酰阿卡宁峰计算

应不低于 2 000,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. β,β' -二甲基丙烯酰阿卡宁
图 1 紫草提取液 HPLC

2.3 正交试验优选^[6-8] 在预试验基础上,选用 95% 乙醇为提取溶剂,确定闪式提取 2 次,选择溶剂用量、提取时间、提取电压为考察因素,每个因素设置 3 个水平,以紫草总萘醌和 β,β' -二甲基丙烯酰阿卡宁转移率为评价指标,采用 L₉(3⁴) 正交设计进行试验,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3,4。

表 1 紫草总萘醌的闪式提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 溶剂用量 /倍	B 提取时间 /min	C 提取电压 /V
1	10,8	2.0	100
2	12,8	1.0	120
3	14,8	0.5	140

表 2 紫草总萘醌的闪式提取工艺优选正交试验安排 %

No.	A	B	C	总萘醌 转移率	β,β' -二甲基 丙烯酰 阿卡宁 转移率
1	1	1	1	79.99	63.21
2	1	2	2	74.63	63.56
3	1	3	3	67.15	60.83
4	2	1	2	90.51	65.24
5	2	2	3	73.42	66.73
6	2	3	1	60.27	67.46
7	3	1	3	88.35	72.30
8	3	2	1	80.75	70.31
9	3	3	2	61.77	66.07
总萘醌	K ₁	221.76	258.84	221.01	
	K ₂	224.19	228.79	226.90	
	K ₃	230.86	189.18	228.91	
	R	9.10	69.66	7.90	
β,β' -二	K ₁	187.60	200.75	200.99	
甲基丙烯酰	K ₂	199.43	200.60	194.87	
阿卡宁	K ₃	208.68	194.36	199.85	
	R	21.08	6.39	6.11	

表3 总萘醌转移率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	14.80	2	7.40	0.16	>0.05
B	813.83	2	406.92	8.78	>0.05
C	11.27	2	5.63	0.12	>0.05
D(误差)	92.73	2	46.37		

表4 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁转移率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	74.43	2	37.22	6.58	>0.05
B	8.87	2	4.43	0.78	>0.05
C	7.01	2	3.53	0.62	>0.05
D(误差)	11.30	2	5.65		

直观分析表明,以总萘醌转移率为评价指标时,影响因素主次为 $B > A > C$,最佳提取条件 $A_3B_1C_3$;以 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁转移率为评价指标时,影响因素主次为 $A > B > C$,最佳提取条件 $A_3B_1C_1$ 。方差分析表明, A, B, C 因素对紫草总萘醌和 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁转移率均无显著性影响,结合生产实际考虑,选择最佳提取工艺为 $A_3B_1C_3$,即分别加 14,8 倍量 95% 乙醇于 140 V 电压下提取 2 次,每次 2 min。

2.4 验证试验 称取紫草最粗粉(10目)20 g,共3份,按优选工艺进行3次验证试验,结果提取液中总萘醌和 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁的平均转移率分别为 90.72% (RSD 1.88%), 70.68% (RSD 1.35%),表明该工艺稳定可行,重复性较好。

2.5 提取工艺比较^[4] 采用渗漉法提取紫草总萘醌。称取紫草粗粉(22目)20 g,共3份,加95%乙醇10倍量浸渍4 h,以 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 流速进行渗漉,渗漉过程中补充12倍量溶剂;收集漉液置于500 mL量瓶中,用95%乙醇定容至刻度,摇匀,结果提取液中总萘醌和 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁平均转移率分别为 79.03% (RSD 2.18%), 65.43% (RSD 1.75%),均不及闪式提取法。

3 讨论

应用闪式提取器时,需将紫草适当粉碎,使饮片小于提取器外刀头内径,否则饮片不易在短时间内被刀头打碎,会影响提取效率。JHBE-50T型闪式提取控制器配有大、小2个刀头,综合取样量、溶剂用量、提取容器等考虑,选用小刀头。研究发现^[10],组织破碎前的浸泡和过滤前的静置对药材成分的提取效果影响较大,增加浸泡和静置时间便于植物细胞充分溶胀,有利于植物组织的破碎和有效成分的溶出。

[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:化学工业出版社,2010:320.
- [2] 赵海青,刘军锋,刘珂. 新疆紫草羟基萘醌类化学成分的研究及对PDE₄的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):96.
- [3] 吴学渊,刘萍. 正交试验设计优选紫草的醇提工艺[J]. 中国医院用药评价与分析,2008,8(10):750.
- [4] 潘晓鹃,沈立,杨志峰,等. 正交设计法优选紫草萘醌成分的提取工艺[J]. 中国医院药学杂志,2010,30(18):1515.
- [5] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物,2007,5(6):401.
- [6] 李精云,刘延泽. 组织破碎提取法在中药研究中的应用进展[J]. 中草药,2011,42(10):2145.
- [7] 刘玉峰,王程程,刘宇,等. 正交试验法优化赤芍总苷闪式提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):12.
- [8] 王玥,杜守颖,吴清,等. 红花中羟基红花黄色素A的闪式提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(9):2144.
- [9] 曾祖平,王子君,王宏,等. HPLC法测定紫草中 β, β' -二甲基丙烯酰阿卡宁的含量[J]. 中国药房,2011,22(15):1407.
- [10] 符玲,毕跃峰,田新慧,等. 野菊花中绿原酸的不同提取工艺比较[J]. 郑州大学学报:医学版,2010,45(3):499.

[责任编辑 全燕]