

不同预处理方法对淫羊藿减压回流提取效果的影响

杨军宣^{1*}, 黄元红², 陈虹静², 万容²

(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016; 2. 雅安三九药业有限公司, 四川 雅安 625000)

[摘要] **目的:**考察不同预处理方法对淫羊藿减压回流提取效果的影响。**方法:**以淫羊藿苷提取率为指标,选择真空度、提取时间、提取次数及温度为考察因素,采用正交试验优化淫羊藿的减压回流提取工艺,通过单因素试验考察药材粒度和浸泡时间对减压回流提取效果的影响。**结果:**减压回流提取最佳工艺条件为加10倍量60%乙醇于真空度0.07 MPa提取3次,每次20 min,提取温度50℃。药材粉碎成细粉和粗粉后,淫羊藿苷得率分别增加9.5%,7.9%,浸膏得率依次增加2.6%,1.7%;原药材浸泡不同时间后,淫羊藿苷提取率最多增加6.4%,浸膏得率最多增加6.9%,浸泡20 min时效果最佳,而粗粉和细粉无明显变化。**结论:**药材经预处理后提取时,有效成分及浸膏得率均会提高。

[关键词] 预处理;淫羊藿;减压提取;正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0048-03

[doi] 10.11653/syfy2013160048

Effects of Different Pretreatment Methods on Vacuum Reflux Extraction Technology of *Epimedium brevicornum*

YANG Jun-xuan^{1*}, HUANG Yuan-hong², CHEN Hong-jing², WAN Rong²

(1. College of Tradition Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;
2. Ya'an Sanjiu Pharmaceutical Co Ltd., Ya'an 625000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of different pretreatment methods on vacuum reflux extraction efficiency of *Epimedium brevicornum*. **Method:** Taking yield of icariin as index, vacuum reflux extraction technology of *E. brevicornum* was optimized by orthogonal test with vacuum degree, extraction time, temperature and times as factors, single factor tests were adopted to investigate effects of soaking time and crushing degree on vacuum extraction efficiency of *E. brevicornum*. **Result:** Optimum vacuum extraction technology was as following: extracted 3 times with 10 times the amount of 60% ethanol, 20 min each time, vacuum degree 0.07 MPa. Yield of icariin increased by 9.5% after *E. brevicornum* crushed into fine powder, it was 7.9% after crushed into coarse powder, and extract yield increased by 2.6%, 1.7%, respectively. After soaked different time, yield of icariin increased by 6.4% and dry extract yield increased by 6.9% at most, soaked 20 min had optimal extraction efficiency, but coarse powder and fine powder had no significant differences. **Conclusion:** Yield of active ingredients and dry extract rate of *E. brevicornum* would increase under different pretreatment methods.

[Key words] pretreatment; *Epimedium brevicornum*; vacuum extraction; orthogonal test

中药的传统提取方法有煎煮法、回流法等,存在提取时间长、不利于含热敏性有效成分的提取、杂质成分较多等问题。减压回流提取可在较低温度下使

溶液处于沸腾状态从而进行动态提取,既保证了药材中热敏性成分免遭高温煎煮破坏,又能减少大分子杂质如淀粉、鞣酸、黏液质等析出,便于制剂的成型和稳定^[1]。淫羊藿具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效,用于肾阳虚衰,阳痿遗精,筋骨痿软,风湿痹痛,麻木拘挛等症^[3]。其主要化学成分为黄酮类化合物,包括淫羊藿苷、淫羊藿次苷、 β -去水淫羊藿素、

[收稿日期] 20130105(012)

[通讯作者] *杨军宣,博士,助理研究员,从事中药新制剂研究, Tel:023-65712064, E-mail: yjxhawk@sina.com

淫羊藿糖苷 A 等^[2]。目前淫羊藿提取方法有回流提取法、超声提取法^[4]、微波提取法^[5-6]等。前期研究表明,淫羊藿减压回流提取效果优于常压提取。本实验以淫羊藿苷提取率为指标,通过正交试验优选淫羊藿的减压回流提取工艺,单因素试验考察不同预处理方法对减压回流提取效果的影响,为中药减压回流提取方法的推广提供参考。

1 材料

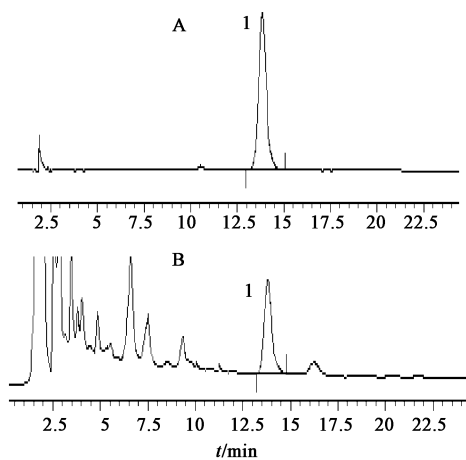
LC-10A 型高效液相色谱仪 (SPD-10AVP 型紫外检测器, SCL-6A 型系统控制器, TC-100 型恒温箱, N2000 色谱数据工作站, 日本岛津公司), Phenomenex luna C₁₈ 色谱柱 (广州菲罗门公司), BP211D 型电子天平 (德国 Startorius 公司), DJ-1000A 型电子天平 (亚太电子天平厂), SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器 (上海亚荣生化仪器厂), TGL-16G 型高速离心机 (上海安亭科学仪器有限公司)。

淫羊藿 (购于成都市大丰中药材市场, 经成都中医药大学尹蓉莉教授鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornum* Maxim. 的干燥叶), 淫羊藿苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110756-200810), 乙腈为色谱纯, 水为双蒸水, 其余试剂均为市售分析纯。

2 方法与结果

2.1 淫羊藿苷的含量测定 按照《中国药典》2010 年版一部淫羊藿药材项下方法操作。

2.1.1 色谱条件 Phenomenex luna C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (30:70), 检测波长 270 nm。理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 1 500, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 淫羊藿苷

图 1 淫羊藿 HPLC

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取淫羊藿苷对

照品适量, 加甲醇制成 0.1 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 标准曲线的制备 分别精密吸取淫羊藿苷对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20 μL 依次进样, 测定峰面积, 以淫羊藿苷质量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 384\ 806X - 19\ 770$ ($r = 0.999\ 9$), 淫羊藿苷在 0.234 ~ 2.34 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.1.4 供试品溶液的制备 精密量取药液 5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 减压回流提取工艺优选^[7] 自制减压回流提取装置, 通过真空泵及放气阀等调节三颈瓶中真空度及提取温度, 见图 2。

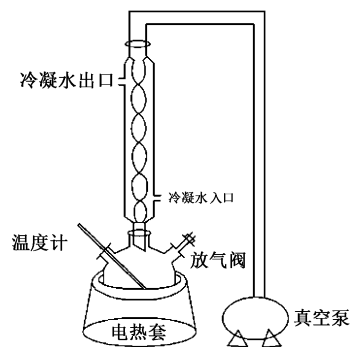


图 2 淫羊藿减压提取装置

淫羊藿苷溶于乙醇、乙酸乙酯, 难溶于水, 不溶于醚、苯、三氯甲烷等, 目前多选择乙醇进行提取^[8]。通过预试验发现, 淫羊藿加 10 倍量 60% 乙醇提取时效果较好。选取真空度、提取时间、提取次数及温度为考察因素, 以淫羊藿苷提取率为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交试验优化淫羊藿的减压回流提取工艺, 试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。

表 1 淫羊藿减压回流提取工艺优选正交试验安排

No.	A 真空度 /MPa	B 温度 / °C	C 提取时间 /min	D 提取数 /次	淫羊藿苷提取率 /%
1	0.03	50	10	1	54.37
2	0.03	70	20	2	72.11
3	0.03	85	30	3	80.34
4	0.05	50	20	3	89.85
5	0.05	70	30	1	64.49
6	0.05	85	10	2	71.33
7	0.07	50	30	2	87.25
8	0.07	70	10	3	80.40
9	0.07	85	20	1	72.42
K ₁	206.82	231.47	206.10	191.28	
K ₂	225.67	217.00	234.38	230.69	
K ₃	240.07	224.09	232.08	250.59	
R	11.08	4.82	9.43	19.77	

表 2 淫羊藿苷提取率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	194.02	2	97.01	23.21	<0.05
B(误差)	8.36	2	4.18	1.00	
C	173.10	2	86.55	20.71	<0.05
D	616.08	2	308.04	73.69	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ 。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $D > A > C > B$ 。以极值最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果因素 A, C, D 均具有显著性差异。确定最优方案为 $A_3B_1C_2D_3$, 即真空度 0.07 MPa, 温度 50 ℃, 提取 3 次, 每次 20 min。

2.3 不同预处理方式考察^[9]

2.3.1 药材粒度 分别称取淫羊藿药材、药材粗粉及细粉适量, 分别按优选的工艺进行减压回流提取, 合并提取液, 结果淫羊藿苷提取率分别为 88.11%, 95.04%, 96.51%, 浸膏得率依次为 12.93%, 13.15%, 13.27%, 表明淫羊藿药材经粉碎处理后提取时, 淫羊藿苷及浸膏得率均有所提高, 其中对淫羊藿苷得率的影响较大, 而浸膏得率增加不明显。

2.3.2 浸泡时间 分别称取淫羊藿药材、药材粗粉及细粉各 7 份, 分别浸泡 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 min, 按优选的工艺进行减压回流提取, 合并提取液, 测定淫羊藿苷含量, 计算提取率与浸膏得率, 结果见图 3, 表明浸泡不同时间后, 原药材的淫羊藿苷得率及浸膏得率增加较明显, 粗粉和细粉无明显变化, 且原药材浸泡 20 min 后各指标变化不明显。

3 讨论

试验发现淫羊藿药材经粉碎处理后再进行提取, 淫羊藿苷提取率及浸膏得率均增加。淫羊藿原药材、粗粉及细粉分别浸泡不同时间后再进行减压回流提取时, 原药材浸泡后淫羊藿苷提取率及浸膏得率增加较明显, 淫羊藿苷得率最多增加 6.4%, 浸膏得率最多增加 6.9%, 但浸泡 20 min 后则变化不明显; 粗粉和细粉无明显变化, 这可能是由于淫羊藿为全草类药材, 提取溶媒易浸润渗透, 故药材浸泡较短时间(或粉碎后不经浸泡)即可提取较完全

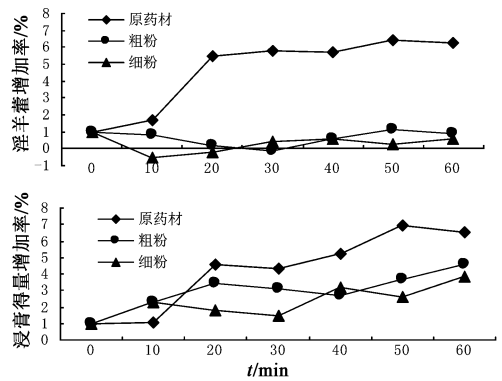


图 3 不同浸泡时间对淫羊藿减压回流提取工艺的影响

(提取率 > 90%), 而对于木质、根茎、皮、果实等药材, 多数质地坚实, 提取溶媒不易浸润渗透, 药材粉碎度及浸泡时间对提取效果的影响可能更明显。

[参考文献]

- [1] 陈晓东. 中药减压提取法原理及突破点[J]. 机电信息, 2008, 15(23): 31.
- [2] 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: 306.
- [3] 谢娟平, 孙文基. 淫羊藿属植物化学成分及药理研究进展[J]. 海峡药学, 2006, 18(5): 17.
- [4] 王欣, 王婷婷, 王海军, 等. 淫羊藿中淫羊藿苷提取工艺[J]. 中国药房, 2009, 20(9): 670.
- [5] 梁新丽, 王春柳, 王光发, 等. 响应曲面法优化微波辅助提取淫羊藿中淫羊藿苷工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 11.
- [6] 陈燕芬, 冯怡, 洪宋贞, 等. 微波技术提取中药淫羊藿的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(20): 1625.
- [7] 韩丽, 韦娟, 周子渝, 等. 栀子减压提取工艺实验研究[J]. 中成药, 2011, 33(1): 160.
- [8] 赵小妹 聂其霞. 不同方法精制淫羊藿水提液对淫羊藿苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(6): 3.
- [9] 黄建猷, 刘智生, 黄瑞松, 等. 正交试验法优选乳康酏渗漉提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(11): 19.

[责任编辑 仝燕]