

# 淫羊藿总黄酮的 3 种减压回流提取工艺优选

陈虹静<sup>1,2</sup>, 黄元红<sup>2</sup>, 李容<sup>2</sup>, 杨军宣<sup>3\*</sup>

(1. 四川大学化学工程学院, 成都 610065; 2. 雅安三九药业有限公司, 四川 雅安 625000;  
3. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016)

**[摘要]** 目的: 优选常规、微波和超声波辅助减压回流提取淫羊藿总黄酮的提取工艺, 比较 3 种减压提取工艺的提取效率。方法: 以淫羊藿苷提取率为指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验分别优化常规、微波和超声波辅助减压回流的提取工艺条件。结果: 常规减压回流提取最佳工艺为真空度 0.07 MPa, 提取 3 次, 每次 20 min, 淫羊藿苷提取率 88.06%; 微波辅助减压回流提取最佳工艺为提取功率 500 W, 提取 2 次, 每次 20 min, 淫羊藿苷提取率 93.27%; 超声波辅助减压回流提取最佳工艺为提取功率 200 W, 提取 2 次, 每次 10 min, 淫羊藿苷提取率 94.16%。结论: 3 种减压回流提取法均优于常压回流提取法, 实际生产中应综合考虑制剂需求、生产成本、环境保护等方面, 选择具有高效性、污染小、节能、操作简便特点的方法。

**[关键词]** 微波法; 超声波法; 减压提取; 淫羊藿苷; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0047-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013110047

## Optimization of Vacuum Reflux Extraction Technology for Total Flavonoids from *Epimedium brevicornu*

CHEN Hong-jing<sup>1,2</sup>, HUANG Yuan-hong<sup>2</sup>, LI Rong<sup>2</sup>, YANG Jun-xuan<sup>3\*</sup>

(1. College of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

2. Ya'an Sanjiu Pharmaceutical Co. Ltd, Ya'an 625000, China;

3. Department of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize conventional, microwave and ultrasonicwave-assisted vacuum reflux extraction technologies for total from *Epimedium brevicornu*, and compare extraction efficiency of this 3

**[收稿日期]** 20121223(007)

**[第一作者]** 陈虹静, 助理工程师, 从事制药工艺及质量研究, Tel: 0835-2876093, E-mail: chlj0520@163.com

**[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

品收率高、操作简单、对设备要求低等优势。本实验以总皂苷收率为指标, 对喜马拉雅紫茉莉总皂苷的乙醇回流工艺进行优选, 结合单因素考察和正交试验, 得到乙醇回流提取喜马拉雅紫茉莉总皂苷的最佳工艺, 优选的工艺稳定可行, 为喜马拉雅紫茉莉的进一步开发提供参考。

### [参考文献]

- [1] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 1986: 88.
- [2] 青海省卫生局. 藏药标准[M]. 西宁: 青海人民出版

社, 1979: 20.

- [3] 何兰, 陈绍农, 陈耀祖. 紫茉莉根中化学成分的研究[J]. 中国野生植物资源, 1996(2): 38.
- [4] 张国林, 周正质, 李伯刚. 紫茉莉酰胺: 喜马拉雅紫茉莉中一新桂皮酰胺[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(3): 12.
- [5] 王玉芝, 于天霞, 王嘉滨. 荔枝核中总皂苷的提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 48.
- [6] 张国松, 封传华, 罗晓健, 等. 柴胡总皂苷提取工艺的优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 17.

[责任编辑 仝燕]

technologies. **Method:** Taking yield of icariin as index,  $L_9(3^4)$  orthogonal test was used to optimize conventional, microwave and ultrasonicwave-assisted vacuum reflux extraction technologies. **Result:** Optimum technology conditions of conventional vacuum reflux extraction were as followings: vacuum degree 0.07 MPa, extracted 3 times with 20 minutes each time, yield of icariin 88.06%. Optimum conditions of microwave-assisted vacuum reflux extraction technology were: extraction power 500 W, extracted 2 times with 20 minutes per time, extraction rate of icariin was 93.27%. Optimum conditions of ultrasonicwave-assisted vacuum extraction technology were: extraction power 200 W, extracted 2 times with 10 minutes per time, extraction rate of icariin was 94.16%. **Conclusion:** These three vacuum reflux processes were all better than atmospheric reflux extraction. In practical application, we should choose process with high efficiency, little pollution, energy saving, convenient operation.

[**Key words**] microwave; ultrasonicwave; vacuum extraction; icariin; orthogonal test

淫羊藿含有黄酮类化合物、生物碱、木脂素、多糖和微量元素等,其中黄酮类化合物为主要有效成分,包括淫羊藿苷、淫羊藿次苷、 $\beta$ -去水淫羊藿素、淫羊藿糖苷 A、B、C、D、E 等<sup>[1]</sup>。具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效,临床用于肾阳虚衰、阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛、麻木拘挛等症<sup>[2]</sup>。目前淫羊藿多采用水煎法、渗漉法、回流提取法、超声提取法<sup>[3]</sup>、微波提取法<sup>[4]</sup>等提取。常规提取法耗时较长,而减压回流既可保证药材中热敏性成分免遭高温煎煮破坏,又能减少许多大分子杂质如淀粉、鞣酸、黏液质等的析出,便于制剂的成型和稳定,对于改进中药提取工艺现状具有重要意义<sup>[5]</sup>,如栀子减压回流提取效果明显优于常压提取<sup>[6]</sup>。本课题组前期研究淫羊藿提取工艺,结果表明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,采用  $L_9(3^4)$  正交试验优选常规、微波及超声波辅助减压回流提取淫羊藿的工艺条件,为减压回流提取法在药材生产中推广提供参考。

### 1 材料

LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), N2000 色谱数据工作站(浙江大学), Phenomenex luna C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m, 广州菲罗门公司), XH-100A 型微波催化合成萃取仪(北京祥鹤科技发展有限公司), BP211D 型电子天平(德国 Sartorius), 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)。

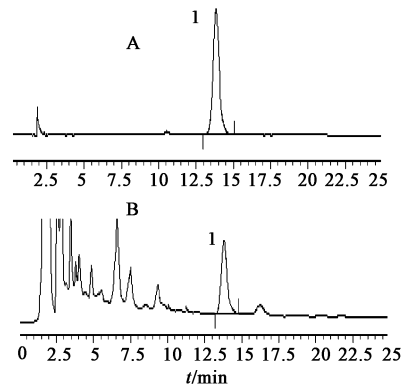
淫羊藿购于成都市大丰中药材市场,经成都中医药大学尹蓉莉教授鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim. 的干燥叶。淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110756-

200810), 乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其余试剂为市售分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 淫羊藿苷的含量测定** 按《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 lunaC<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 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** 取淫羊藿苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.1 g · L<sup>-1</sup> 的溶液,即得。

**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  $\mu$ L 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,得线性回归方程  $Y = 384\ 806X - 19\ 770 (r = 0.999\ 9)$ , 表明淫羊藿苷在 0.234 ~ 2.34  $\mu$ g 与峰面积呈良好线性关系。

**2.1.4 供试品溶液制备及测定** 精密量取提取液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加稀乙醇至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶

液各 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,测定,计算淫羊藿苷含量。

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

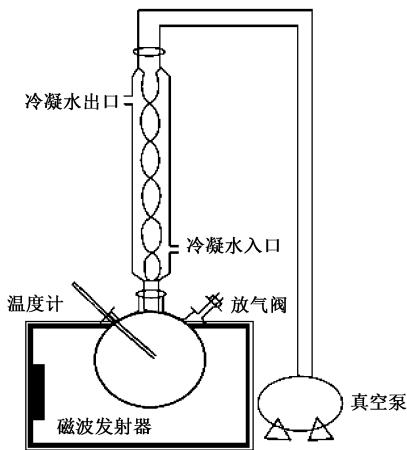


图 2 淫羊藿减压回流提取装置

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。目前多用乙醇溶液进行提取<sup>[7]</sup>。预试验发现,淫羊藿加 10 倍量 60% 乙醇溶液进行减压回流提取效果较好。采用  $L_9(3^4)$  正交试验优选淫羊藿总黄酮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。

直观分析表明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,结果发现  $A, C, D$  均具有显著性差异。确定最优方案为  $A_3B_1C_2D_3$ ,即加 10 倍量 60% 乙醇溶液于 50  $^{\circ}\text{C}$  减压提取 3 次,每次 20 min,真空度 0.07 MPa。

**2.3 微波辅助减压回流提取工艺优选** 真空度控制为 0.07 MPa,加 10 倍量 60% 乙醇溶液进行微波辅助减压回流提取。应用  $L_9(3^4)$  正交试验优选提取工艺条件,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

直观分析表明各因素对提取工艺的影响大小为  $D > C > B > A$ 。以极值最小的  $A$  因素为误差项进行方差分析,结果发现  $C, D$  因素具有显著性差异, $B$  因素则无显著性差异。因此,确定最优方案为  $A_1B_1C_2D_2$ ,即加 10 倍量 60% 乙醇溶液提取 2 次,每次 20 min,微波功率 500 W,真空度 0.07 MPa,提取温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.4 超声波辅助减压回流提取工艺优选** 真空度控制为 0.07 MPa,加 10 倍量 60% 乙醇溶液进行超

表 1 淫羊藿总黄酮常规减压回流提取工艺正交试验安排

No.	A 真空度 /MPa	B 提取温度 / $^{\circ}\text{C}$	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 常规减压回流提取方差分析

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: $F_{0.05}(2,2) = 19.0$ (表 4,6 同)。

声波辅助减压回流提取淫羊藿总黄酮。通过  $L_9(3^4)$  正交设计法对提取工艺进行优选,试验安排及结果见表 5,方差分析见表 6。

直观分析表明各因素影响顺序为  $D > A > C > B$ 。以极值最小的  $B$  因素为误差项进行方差分析,结果发现  $A, D$  因素具有显著性差异, $C$  因素则无显著性差异。因此,确定最优方案为  $A_2B_1C_1D_2$ ,即加 10 倍量 60% 乙醇溶液提取 2 次,每次 10 min,超声波功率 200 W,真空度 0.07 MPa,提取温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.5 验证试验** 按筛选的最优条件进行验证试验,比较常压回流提取和常规、微波辅助、超声波辅助 3 种减压回流工艺的提取效果。计算淫羊藿苷提取率分别为  $(90.24 \pm 0.89)\%$ ,  $(88.06 \pm 1.05)\%$ ,  $(93.27 \pm 0.93)\%$ ,  $(94.16 \pm 1.07)\%$ ;测得干膏得率(取样品溶液 20 mL 置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴浓缩至干,置 105  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中干燥 3 h,取出,冷却至室温,称重,计算)依次为  $(17.56 \pm 0.93)\%$ ,  $(12.51 \pm 0.66)\%$ ,  $(14.88 \pm 0.85)\%$ ,  $(15.43 \pm 0.52)\%$ ;耗时分别为 180,60,40,20 min。

表 3 淫羊藿总黄酮微波辅助减压回流提取工艺

正交试验安排					
No.	A 微波功率 /W	B 提取温度 /℃	C 提取时间 /min	D 提取数 /次	淫羊藿苷 提取率 /%
1	500	50	10	1	70.42
2	500	70	20	2	92.82
3	500	85	30	3	95.86
4	700	50	20	3	94.55
5	700	70	30	1	75.09
6	700	85	10	2	83.21
7	900	50	30	2	93.66
8	900	70	10	3	82.13
9	900	85	20	1	76.80
$K_1$	259.1	258.63	235.76	222.31	
$K_2$	252.85	250.04	264.17	269.69	
$K_3$	252.59	255.87	264.61	272.54	
R	2.17	2.86	9.62	16.74	

表 4 微波辅助减压回流提取方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A(误差)	9.08	2	4.54	1.00	
B	12.84	2	6.42	1.42	>0.05
C	182.21	2	91.10	20.07	<0.05
D	530.7	2	265.35	58.45	<0.05

表 5 淫羊藿总黄酮超声波辅助减压回流提取工艺正交试验安排

No.	A 超声波功率 /W	B 提取温度 /℃	C 提取时间 /min	D 提取数 /次	淫羊藿苷 提取率 /%
1	100	50	10	1	75.11
2	100	70	20	2	81.32
3	100	85	30	3	83.27
4	200	50	20	3	94.76
5	200	70	30	1	80.30
6	200	85	10	2	93.89
7	300	50	30	2	94.12
8	300	70	10	3	96.23
9	300	85	20	1	81.46
$K_1$	239.70	263.99	265.23	236.87	
$K_2$	268.95	257.85	257.54	269.33	
$K_3$	271.81	258.62	257.69	274.26	
R	10.70	2.04	2.56	12.46	

### 3 讨论

中药常规煎煮、回流等方法存在提取效率低、溶液体积大、杂质多,提取物黏性强、吸湿性强等问题,

表 6 超声波辅助减压回流提取方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	210.53	2	105.26	28.22	<0.05
B(误差)	7.45	2	3.73	1.00	
C	12.88	2	6.44	1.73	>0.05
D	275.10	2	137.55	36.87	<0.05

这些物理特性会造成制剂成型困难、服用量大、制剂不稳定等问题。本实验采用正交试验优选了减压回流提取及微波、超声波辅助强化减压回流提取淫羊藿总黄酮的工艺条件。研究结果表明,减压回流提取的效率明显优于回流提取,以淫羊藿苷提取率进行评价,减压回流提取 60 min 的提取效果与回流提取 180 min 相当;微波及超声波辅助强化提取耗时更少( $\leq 40$  min),同时淫羊藿苷提取率更高。常规减压回流提取的干膏得率比常压回流提取约低 30%;微波及超声波辅助强化提取在提高淫羊藿苷提取率的同时,亦使杂质溶出增多,但干膏得率仍比常压回流提取约低 14%。

微波及超声波辅助减压提取法较常规减压回流提取法,不仅提取率增高,还大大缩短了提取时间。说明在提取过程中施加微波辐射和超声场均能有效加速淫羊藿黄酮的溶出。微波辅助提取法与超声波辅助提取法的提取率相近,且或者耗时更少,但从环境保护考虑,微波辅助提取法优于超声波辅助提取法,因为超声波辅助提取过程中会产生大量噪音,污染环境。

### [参考文献]

- [1] 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.
- [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] 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.
- [4] 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.
- [5] 陈晓东.中药减压提取法原理及突破点[J].机电信息,2008,8(23):31.
- [6] 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.
- [7] 赵小妹,聂其霞,张保献,等.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.

[责任编辑 全燕]