

复方玉屏风超声提取工艺

杨鼎隆, 李育民, 黄晓君, 黄敏霞, 贲永光*

(广东药学院药科学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 探讨超声强化提取玉屏风总糖的最佳工艺条件, 比较玉屏风总糖的复方和单方提取的优劣。方法: 利用正交设计试验确定玉屏风总糖最佳提取工艺, 与常规提取方法进行比较, 并比较玉屏风总糖的复方整体和单方提取率。结果: 结果表明最佳工艺条件为固液比 1:20, 超声温度 55 ℃, 超声时间 20 min, 此优化条件下, 复方玉屏风总糖的提取率为 14.25%, 浸渍 180 min 的提取率为 5.44%, 常规搅拌 180 min 的提取率为 7.35%。结论: 与传统提取方法(浸渍法和搅拌法)比较, 超声提取具有省时、节能、高效等优点, 为现代药企进行大规模、高效率的生产提供了充分条件。

[关键词] 玉屏风总糖; 超声提取; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0017-03

Ultrasonic-assisted Extraction Process of Compound Yupingfeng

YANG Ding-long, LI Yu-min, HUANG XIAO-jun, HUANG Min-xia, BI Yong-guang*

(College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate optimum extraction technology conditions of polysaccharides from

[收稿日期] 20110922(001)

[基金项目] 广东省高等学校大学生创新实验项目(1057310018); 广东省科技计划项目(2009A030100007); 企业科技特派员工作站建设项目(2010B090500033); 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室、广东省海洋药物重点实验室、广东省应用海洋生物学重点实验室联合开放基金项目(LMB081003)

[第一作者] 杨鼎隆, 在读本科, 从事制药工程技术研究, E-mail: 1019728347@qq.com

[通讯作者] * 贲永光, 讲师, 博士, 从事天然产物声化学与制药工程技术研究, E-mail: biyongguang2002@163.com

70% 乙醇 3 BV 洗脱, 可获得纯度大于 80% 的总黄酮提取物。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005:154.
- [2] 姚圣祥, 陆英, 董艳. 肿节风注射液治疗小儿病毒性肺炎 60 例[J]. 中国药业, 2006, 15(16):59.
- [3] 蔡芳丛, 梁丽娜, 张海朋, 等. 肿节风注射液佐治上呼吸道感染 176 例[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(1):93.
- [4] 赵益, 陈奇, 孙有智. 肿节风与氟尿嘧啶联合应用的抗肿瘤作用[J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(2):30.
- [5] 马姗姗, 王仁生, 韦波, 等. 肿节风防治鼻咽癌诱导化疗毒副反应[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16):185.
- [6] 周斌, 刘可越, 常军, 等. 中药肿节风的化学成分和药

理作用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2009, 26(12):982.

- [7] 王敦清, 李先春. 草珊瑚根茎叶中总黄酮成分的研究[J]. 中草药, 1996, 27(6):337.
- [8] 任刚, 刘荣华, 邵峰, 等. 二色波罗蜜根皮总黄酮提取纯化工艺研究[J]. 中药材, 2010, 33(8):1320.
- [9] 魏惠珍, 李新南, 龚建平, 等. 紫外分光光度法测定罗银胶囊中总黄酮含量的不确定度评定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):39.
- [10] 周斌, 李雁霞, 李忠贵, 等. 基于大孔吸附树脂富集法的肿节风粗黄酮纯化研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(17):9000.
- [11] 邵佳, 蔡立, 郁建平. 大孔吸附树脂纯化草珊瑚总黄酮的工艺条件[J]. 山地农业生物学报, 2008, 27(1):47.

[责任编辑 仝燕]

Yupingfeng by ultrasonic-assisted extraction, and to compare extraction rate of polysaccharides between compound extraction and unilateral extraction. **Method:** Optimum extraction conditions were obtained by orthogonal design test, compared with traditional extraction technology, and compared extraction rate of polysaccharides from Yupingfeng by compound extraction and unilateral extraction. **Result:** Result showed that optimum technology conditions were: ultrasound temperature 55 °C, ratio of solid-liquid 1:20, ultrasonic time 20 min, under these optimum conditions, extraction rate of polysaccharides from Yupingfeng was 14.25%, extraction rate of impregnation method was 5.44% in 180 min, extraction rate of conventional mixing method was 7.35%. **Conclusion:** Compared with traditional extraction methods (impregnation method and mixing method), ultrasonic extraction had some advantages, such as time-saving, energy saving, high efficiency and so on. It offered sufficient conditions for large-scale and efficient production of modern medicine enterprises.

[**Key words**] polysaccharides from compound Yupingfeng; ultrasound extraction; orthogonal experiment

复方玉屏风由黄芪、白术、防风组成,始载于元朝朱丹溪的《丹溪心法》,具有益气固表、健脾止汗的作用。复方玉屏风中的各组成药物的多糖成分均对机体免疫系统有影响,而玉屏风总糖是玉屏风散免疫干预的主要有效部位,因此玉屏风总糖较单一多糖(黄芪多糖、白术多糖、防风多糖)有更大的免疫增强作用。本实验以复方玉屏风总糖为研究对象,比较超声提取方法的优势,并通过正交试验确定超声提取的最佳工艺^[1-7]。

1 材料

玉屏风购自广州清平市场,药材均经广东药学院滕希峰讲师鉴定,晒干粉碎后备用。

UV1101 型紫外-可见分光光度仪(上海天美科学仪器有限公司),AY120 型电子分析天平(日本岛津公司),DFY-400 型摇摆式高速中药粉碎机(大德中药机械有限公司),葡萄糖(分析纯,广州汕头市西陇化工厂),蒸馏水、苯酚、浓硫酸等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 葡萄糖对照品溶液的制备 精密称取葡萄糖对照品 25.0 mg,置 50.0 mL 量瓶中,蒸馏水溶解,稀释至刻度,摇匀,即得 0.500 g·L⁻¹ 葡萄糖对照品溶液。

2.2 标准曲线制备 分别取 0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 mL 葡萄糖溶液用蒸馏水稀释定容至 25.0 mL 量瓶中,各取 1.0 mL 于试管中,在冰水浴的条件下,缓慢的加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸溶液 5.0 mL,振摇 5 min,沸水浴 10 min,然后置冷水浴中冷却 20 min,同时以苯酚-浓硫酸溶液为空白对照,在 490 nm 处测量吸光度值。以吸收值(A)为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $A = 40.686C - 0.0038$ ($r =$

0.994 4),结果表明在 0.020 ~ 0.12 g·L⁻¹ 与吸收度线性关系良好。

2.3 玉屏风总糖的制备及含量测定 准确称取玉屏风 5.0 g(黄芪 3.0 g,防风 1.0 g,白术 1.0 g)放入锥形瓶中,加入适量蒸馏水混匀,按各种设定条件超声提取,抽滤,滤液浓缩至总体积的 1/5,加适量蒸馏水溶解,置 25 mL 量瓶中,稀释至刻度,精密吸取一定量样品液置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密吸取溶液 1.0 mL,置于试管中,另精密吸取蒸馏水 1.0 mL 作空白对照,加 5% 苯酚溶液 1.0 mL,浓硫酸 5.0 mL 摇匀,于沸水浴中加热 10 min,冷却,于 490 nm 处测定吸收度值,得多糖得率及含量。玉屏风总糖提取率 EY 按公式计算。

$$EY = \frac{x_t(\text{mg})}{x_0(\text{g})} \times 100\%$$

式中 x_0 代表提取前玉屏风的量, x_t 代表提取所得多糖的量。

2.4 正交设计试验 精密称取玉屏风 5.0 g。选取超声提取功率(360 W)为空白,以固液比、超声提取温度、超声提取时间为 3 个因素,每个因素设定 3 个水平设计(表 1),考察超声提取玉屏风总糖的最佳工艺,结果见表 2,3。

表 1 超声强化提取玉屏风总糖的正交试验因素与水平

水平	A 提取 温度/°C	B 提取 时间/min	C 固液比 /g·mL ⁻¹
1	35	10	1 : 10
2	45	20	1 : 25
3	55	30	1 : 30

由表 2,3 结果可知,影响超声提取玉屏风总糖的 3 个因素中,影响玉屏风总糖提取率的次序为 A > B > C,即提取温度 > 提取时间 > 固液比。得出超声

表2 超声强化提取玉屏风总糖的正交试验安排

No.	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	8.94
2	1	2	2	2	8.13
3	1	3	3	3	10.02
4	2	1	2	3	9.76
5	2	2	3	1	10.41
6	2	3	1	2	8.38
7	3	1	3	2	11.62
8	3	2	1	3	15.92
9	3	3	2	1	10.81
K_1	9.03	10.11	11.08	10.05	
K_2	9.52	11.49	9.57	9.38	
K_3	12.78	9.73	10.68	11.90	
R	3.752	1.753	1.513	2.52	

表3 超声强化提取玉屏风总糖的正交试验方差分析

因素	SS	f	F	P
A	24.985	2	6.758	
B	5.120	2	1.385	
C	3.697	2	1.000	
D(误差)	3.697	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

提取玉屏风总糖的优化工艺参数为固液比 1:30, 超声温度 55℃, 超声时间 20 min, 此优化条件下, 复方玉屏风总糖的提取率是 15.92%。

2.5 验证试验 精密称取玉屏风 5.0 g(黄芪 3.0 g, 防风 1.0 g, 白术 1.0 g), 按最佳优选工艺重复试验 3 次, 测得玉屏风总糖的平均提取率为 14.25%, RSD 1.23%, 说明该工艺稳定。

2.6 超声提取与常规法提取的对比试验 超声提取按最佳提取工艺进行, 与搅拌法和浸渍法提取玉屏风总糖作比较。搅拌法提取: 精密称取玉屏风 5.0 g, 搅拌时间 180 min, 提取温度 55℃, 提取固液比 1:20; 浸渍法提取: 精密称取玉屏风 5.0 g, 浸渍

时间 180 min, 提取温度为 55℃, 提取固液比 1:20。结果搅拌法, 浸渍法及超声提取法的玉屏风总糖提取率分别为 7.12%, 5.58%, 14.25%。由结果可知超声提取较常规提取方法具有省时、高效等优势。

2.7 复方超声提取与单方超声提取的对比试验 按优选的最佳提取工艺进行复方、单方超声提取的对比试验。复方提取: 精密称取玉屏风 5.0 g, 在最佳工艺条件下提取玉屏风总糖; 单方提取: 精密称取黄芪 3.0 g, 防风 1.0 g, 白术 1.0 g, 分别在最佳工艺条件下提取总糖, 结果分别为 14.25%, 8.11%。结果可知复方提取玉屏风总糖的提取率是单方提取的 2 倍左右, 复方提取总糖的提取率要高。

3 讨论

结果表明, 影响超声提取玉屏风总糖的 3 个因素(温度、时间、固液比)中, 温度的影响最大, 优选的超声提取工艺与常规的提取方法(搅拌、浸渍)相比较, 超声提取具有省时、节能、高效等优点, 此工艺简单、可行、成本低, 是提取玉屏风总糖类物质的有效方法之一。

[参考文献]

- [1] 岳辉吉, 朱杰. 天然色素的超声提取研究[J]. 现代生物医学进展, 2006, 6(5): 11.
- [2] 胡斌杰, 陈金锋, 王宫南. 超声波法与传统热水法提取灵芝多糖的比较研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(20): 190.
- [3] 钟玲, 尹蓉莉, 张仲林. 超声提取技术在中药提取中的研究进展[J]. 西南军医, 2007, 9(6): 84.
- [4] 何先元, 许晋芳, 王秋霜, 等. 当归多糖的超声提取及含量测定[J]. 中国药业, 2010, 19(19): 34.
- [5] 曹继军. 玉屏风颗粒的药效学研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(5): 390.
- [6] 张黎明, 朱丽, 李雪, 等. 玉屏风总多糖水提醇沉工艺条件优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 24.
- [7] 邵建华, 洪敏, 牛艳, 等. 玉屏风散抑制小鼠 Th2 型变应性接触性皮炎[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 173.

[责任编辑 全燕]