

延灯滴丸 3 种提取方法的对比

崔佰吉,张秀荣*,张俊燕,王帅群
(吉林医药学院药学院,吉林 吉林 132013)

[摘要] 目的:对比不同提取方法对延灯滴丸中灯盏乙素的提取效果。方法:以灯盏乙素含量和出膏率为考察指标,分别采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验法, $U_{10}(10^6)$, $U_4(5^4)$ 均匀试验法优化乙醇回流、超声波提取及闪式提取的最佳工艺。并对比延灯滴丸中灯盏乙素的提取效果。结果:乙醇回流、超声波提取及闪式提取 3 种方法的灯盏乙素平均含量分别为 3.26%、2.61%、2.15%;平均出膏率分别为 26.23%、14.02%、19.2%。结论:采用乙醇回流法提取时灯盏乙素含量及出膏率最高,为延灯滴丸的提取方法优化提供理论依据。

[关键词] 闪式提取;超声;延灯滴丸;灯盏乙素

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)07-0024-03

Camparison of 3 Kinds Extraction Method for Yandeng Dripping Pill

CUI Bai-ji, ZHANG Xiu-rong*, ZHANG Jun-yan, WANG Shuai-qun
(College of Pharmacy, Jilin Medical College, Jilin 132013, China)

[Abstract] Objective: To compare extraction effect of scutellarin from Yandeng dripping pill by different extraction methods. Method: With the content of scutellarin and yield of extract as indexes, optimum extraction technology of ethanol refluxing, ultrasonic extraction and flash extraction were investigated by $L_{16}(4^5)$ orthogonal test, $U_{10}(10^6)$ and $U_4(5^4)$ uniform-designed experiments, respectively. And compared extraction capability of scutellarin from Yandeng dripping pill. Result: The average contents of scutellarin with ethanol refluxing method, ultrasonic extraction method, flash extraction were 3.26%, 2.61%, 2.15%; And average extraction ratio were 26.23%, 14.02%, 19.2%. Conclusion: The content of scutellarin and extraction ratio was the best by ethanol refluxing, it provided theoretical basis for extraction method of Yandeng dripping pill.

[Key words] flash extraction; ultrasound; Yandeng dripping pill; scutellarin

延灯滴丸由灯盏花、延胡索、黄芪等中药材提取物与适宜基质制备而成^[1]。经初步药理学研究表明其对冠心病的预防和治疗有一定作用,方中灯盏花中灯盏花素为其主要药效成分,灯盏花素包括灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏丙素等。本文以灯盏乙素和出膏率为主要考察指标,对比乙醇回流法、超声波提取法及闪式提取法对延灯滴丸有效成分的提取效果,为延灯滴丸的工业化生产提供可靠的理论依据。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪 (DAD 检测器,日本岛津),CAP225D 型电子天平 (Sartorius),HWZ-2B 型微波真空干燥器 (广州兴兴微波能设备有限公司),JHBE-50S 型闪式提取器 (河南金鼎科技发展有限公司),MA100 水分测定仪 (Sartorius)。

灯盏乙素对照品 (中国药品生物制品检定所,批号 110842-200605),灯盏花、延胡索、黄芪购于吉林市大药房,按照《中国药典》2010 年版一部检查,各项检查均符合规定,经吉林医药学院雷钧涛教授鉴定,灯盏花为菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Van. t) Hand-Mazz 的干燥全草;延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎;黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var.

[收稿日期] 20111101(013)

[基金项目] 吉林省科技厅发展计划项目(200705414)

[第一作者] 崔佰吉, 硕士, 从事新制剂研究, Tel: 0432-64560319, E-mail: littlebeehome@ qq. com

[通讯作者] * 张秀荣, 教授, 从事中药新剂型与新制剂研究, Tel: 0432-64560316, E-mail: yxzxr@ 163. com

mongolicus (Bge.) Hsiao 的干燥根。

乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 灯盏乙素含量测定

2.1.1 色谱条件^[1] Agilent TC-2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1 % 磷酸水溶液(三乙胺调节 pH 3.0),梯度洗脱(0 ~ 15 ~ 25 ~ 45 ~ 55 ~ 80 min,10% ~ 10% ~ 22% ~ 22% ~ 50% ~ 50% 乙腈),流速 0.8 mL·min⁻¹,检测波长 335 nm,柱温 35 ℃,进样量 10 μL。

2.1.2 样品的测定 精密称取提取物粉末 0.2 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 25 mL 甲醇,溶解,称定质量,超声(250 W,40 kHz)处理 30 min,放至室温,用甲醇补足减失质量,混匀,微孔滤膜过滤,HPLC 测定,计算。

2.2 乙醇回流提取^[2]

2.2.1 正交试验 选择乙醇体积分数(*A*)、乙醇用量(*B*)、提取时间(*C*)和提取次数(*D*)4 个影响因素安排试验,水平数见表 1。

表 1 延灯滴丸乙醇回流提取工艺正交试验因素水平

水平	乙醇体积分数 <i>A</i> /%	<i>B</i> 乙醇用量/倍	<i>C</i> 提取时间/h	<i>D</i> 提取次数/次
1	60	6	1	1
2	70	8	2	2
3	80	10	3	3
4	90	12	4	4

取灯盏花 12 g,黄芪 10 g,延胡索 9 g,精密称定,按 L₁₆(4⁵) 正交表安排试验,提取液浓缩,干燥,测定出膏率,按 2.1.2 项下方法制备样品,测定灯盏乙素的含量,结果及方差分析见表 2,3。

由表 2,3 可知 4 因素中乙醇体积分数对试验具有显著性影响,4 因素对结果的影响顺序为 *A* > *D* > *B* > *C*,即乙醇体积分数 > 提取次数 > 乙醇倍量 > 提取时间。结合生产实际,确定以 A₁B₃C₃D₃ 为最佳提取工艺,即 10 倍量 60% 乙醇提取 3 次,每次 3 h。

2.2.2 验证试验 取灯盏花 12 g,黄芪 10 g,延胡索 9 g,精密称定,按优选的最佳提取工艺安排试验,结果灯盏乙素平均质量分数 3.26 %,平均出膏率 26.23 %。

2.3 超声波提取^[3-5] 采用均匀设计试验 主要影响因素为溶剂倍数(*A*)、提取功率(*B*)、提取温度(*C*)、提取时间(*D*)及乙醇体积分数(*E*)。取灯盏花

表 2 延灯滴丸乙醇回流提取工艺正交试验安排

No.	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	出膏率/%	灯盏乙素/%	综合评分
1	1	1	1	1	1	21.64	1.22	22.86
2	1	2	2	2	2	25.78	2.28	28.06
3	1	3	3	3	3	28.36	3.46	31.82
4	1	4	4	4	4	28.1	3.06	31.16
5	2	1	2	3	4	20.61	0.8	21.41
6	2	2	1	4	3	25.43	0.89	26.32
7	2	3	4	1	2	22.65	1.18	23.83
8	2	4	3	2	1	24.53	1.05	25.58
9	3	1	3	4	2	21.51	1.58	23.09
10	3	2	4	3	1	21.06	1.35	22.41
11	3	3	1	2	4	17.95	0.16	18.11
12	3	4	2	1	3	15.58	1.24	16.82
13	4	1	4	2	3	15.24	0.91	16.15
14	4	2	3	1	4	11.65	1.75	13.4
15	4	3	2	4	1	16.95	2.08	19.03
16	4	4	1	3	2	16.33	1.4	17.73
<i>K</i> ₁	113.9	83.51	85.02	76.91				
<i>K</i> ₂	97.14	90.19	85.32	87.9				
<i>K</i> ₃	80.43	92.79	93.89	93.37				
<i>K</i> ₄	66.31	91.29	93.55	99.6				
<i>R</i>	47.59	9.28	8.87	22.69				

表 3 乙醇回流提取方差分析

误差来源	<i>f</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>A</i>	3	106.147	30.038	<0.05
<i>B</i>	3	4.198	1.188	>0.05
<i>C</i>	3	6.1	1.726	>0.05
<i>D</i>	3	23.17	6.557	>0.05
<i>E</i> (误差)	3	3.533	1.000	

12 g,黄芪 10 g,延胡索 9 g,精密称定,采用 U₁₀(10⁶) 使用表安排试验,提取液浓缩,干燥得干膏粉末。测定出膏率,按 2.1.2 项下方法制备样品测定灯盏乙素的含量,结果见表 4。

结果经 DPS9.50 软件数据处理系统进行二次多项式逐步回归分析。回归方程:

$$Y = 79.2 - 1.4X_4 - 0.3X_5 - 0.1X_1^2 + 0.006X_4^2 + 0.001X_5^2 - 0.009X_1X_3 + 0.01X_1X_4 + 0.002X_4X_5$$

(*r*=0.999 7)

经软件运算,结合实际操作条件,调整超声波最佳提取参数为溶剂用量为 4 倍量,超声波功率 300

表 4 延灯滴丸超声波提取 $U_{10}(10^6)$ 试验安排

No.	A 溶剂 倍数 /倍	B 提取 功率 /W	C 提取 温度 /℃	D 提取 时间 /min	E 乙醇 体积 分数/%	灯盏 乙素 /%	出膏率 /%
1	3	350	55	95	70	2.44	12.97
2	3.5	400	65	85	70	2.34	16.21
3	4	500	50	100	65	2.22	14.34
4	4.5	300	65	90	65	1.91	17.86
5	5	350	50	80	60	3.1	11.1
6	3	450	60	100	60	2.1	16.14
7	3.5	500	45	90	55	2.63	16.99
8	4	300	60	80	55	3.67	11.64
9	4.5	400	45	95	50	2.24	8.08
10	5	450	55	85	50	2.55	14.07

W,提取温度 50℃,提取时间 90 min,乙醇体积分数 55%。按以上优选工艺进行验证试验,结果灯盏乙素平均质量分数 2.61%,平均出膏率 14.02%。

2.4 闪式提取 采用均匀设计试验,选择乙醇体积分数(A),乙醇用量(B),提取时间(C)3个因素,分别设置5个水平进行均匀试验,取灯盏花12 g,黄芪10 g,延胡索9 g,精密称定,采用 $U_4(5^4)$ 使用表安排试验,提取液浓缩,干燥得干膏粉末,测定出膏率,按**2.1.2**项下方法制备样品测定灯盏乙素的含量。 $U_4(5^4)$ 使用及结果见表5。

表 5 延灯滴丸闪式提取工艺均匀设计试验安排

No.	A 乙醇体积 分数/%	B 乙醇用量 /倍	C 提取时间 /min	灯盏乙素 /%	出膏率 /%
1	55	7.5	110	2.12	18.74
2	60	8.5	100	1.64	19.19
3	65	7	90	1.97	14.06
4	70	8	60	1.94	15.73
5	75	9	120	2.24	16.59

将表5结果经DPS9.50软件数据处理系统进行二次多项式逐步回归分析,得回归方程 $Y = 13.86 - 0.43X_1 + 4.72X_2 - 0.00036X_3^2 (r = 0.9999)$ 。

经软件运算,结合实际操作条件,调整闪式提取法最佳提取参数为9.5倍量55%乙醇提取80 s。按优选工艺进行验证试验,结果灯盏乙素平均质量分数2.15%,平均出膏率19.2%。

综合以上结果可知,3种提取方法灯盏乙素含量为乙醇回流提取法>超声提取法>闪式提取法,出膏率为乙醇回流法>闪式提取法>超声波提取法。

3 讨论

超声波提取法和闪式提取法出膏率较低,灯盏乙素含量均低于乙醇回流法。对比3种方法最佳提取工艺的提取时间可知,闪式提取法提取时间80 s,相对于乙醇回流法的180 min和超声波提取法的90 min具有明显的优势,结合工业化角度考虑,超声波提取方法更具有可操作性的优势,更适合工业大生产的要求。

灯盏乙素为代表的灯盏花素为脂溶性成分,本研究以出膏率为考察指标之一,3种提取方法种采用的乙醇体积分数分别为60%,55%,55%,均属于低浓度乙醇提取,提高了水溶性多糖类成分的提取率,故乙醇回流法提取时出膏率非常显著。

[参考文献]

[1] 崔佰吉,王丽娜,李亚巍,等. HPLC法测定延灯滴丸中药物含量的方法学研究[J]. 药物分析杂志,2009,29(10):1672.

[2] 王丽娜,崔佰吉,雷钧涛,等. 延灯滴丸的提取工艺研究[J]. 中成药,2009,31(11):1765.

[3] 高贵桃,杨敏丽,梁新华. 超声波辅助提取甘草角鲨烯及粗脂肪成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):5.

[4] 吴艳芳,王新胜,尹延彦,等. 超声辅助提取连翘总黄酮工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):30.

[5] 王汉卿,王文苹,闫津金,等. 超声提取枸杞叶中总黄酮提取工艺及其不同采收期含量变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):44.

[责任编辑 全燕]