

超声法提取远志中细叶远志皂苷的工艺优选

孙于杰,王莹,侯林,丁嘉信,霍雨佳,田景振*
(山东中医药大学 药学院,济南 250355)

〔摘要〕 目的:优选细叶远志皂苷超声提取工艺。方法:以细叶远志皂苷提取率为指标,在单因素试验的基础上,采用正交实验设计分别对提取溶剂、提取时间、料液比进行考察。结果:超声法提取细叶远志皂苷的最佳提取工艺为 90% 乙醇提取 40 min,料液比 1:10。结论:提取工艺较稳定可行,超声提取法节约时间、能源。
〔关键词〕 细叶远志皂苷;超声法;正交设计
〔中图分类号〕 R283.6 〔文献标识码〕 B 〔文章编号〕 1005-9903(2012)02-0053-03

远志为常见中药,始载于《神农本草经》,列为上品。具有安神益智、祛痰、消肿功效,用于心肾不交引起的失眠多梦、健忘惊悸、神志恍惚、咳痰不爽、疮疡肿毒、乳房肿痛等^[1]。远志的主要成分为皂苷、寡糖酯、Xanthone 以及少量生物碱等,而皂苷类成分是远志的主要活性成分^[2-4]。对于远志皂苷的提取及含量测定方法主要有香草醛-高氯酸比色法^[5],超声提取-紫外分光光度法^[6],乙醇回流提取以远志酸为对照品 HPLC 法^[7]。由于远志总皂苷所含皂苷种类较多,且尚有多种皂苷类成分结构尚不明确,故之前的提取工艺及含量测定方法均不具有

普遍代表性。而细叶远志皂苷是远志总皂苷类碱水解的共同产物。因此,优选细叶远志皂苷的提取工艺对于远志总皂苷的进一步研究具有意义深远。

1 材料

日立 L-2000 型高效液相色谱仪(日本日立),BS110S 型电子天平(北京赛多利斯天平公司)。

远志购自安国东方药城,经本校生药教研室周凤琴教授鉴定为远志科植物远志 *Polygalae tenuifolia* Wild. 的干燥根,细叶远志皂苷购自成都曼思特生物科技有限公司(批号 20100913)。甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 细叶远志皂苷含量测定

2.1.1 色谱条件 Venusil XBP-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.05% 磷酸水溶液(60:40),柱温 25 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm。

2.1.2 供试品溶液的制备^[1]取本品粉末(过三号

〔参考文献〕

〔1〕 中国药典.一部〔S〕.2010:295.
〔2〕 高学敏,钟赣生.实用中药学〔M〕.北京:中国中医药出版社,2006:190.
〔3〕 李贵荣.野菊花多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用〔J〕.中国公共卫生,2002,18(3):269.
〔4〕 Hisashi Matsuda. Structural requirements of flavonoids and related compounds for aldose reductase inhibitory activity〔J〕. Chem Pharm Bull,2002,50(6):788.
〔5〕 房海灵,郭巧生,申海进.响应面法优化野菊花多糖含量测定的前处理条件〔J〕.中国中药杂志,2009,34(13):1665.
〔6〕 和殿峰,李跟区,陈爱娜.正交试验优选鱼腥草多糖

活性炭脱色工艺〔J〕.中国药房,2009,20(6):434.
〔7〕 孙明礼,付会鹏,张静.半枝莲多糖脱色及清除羟基自由基作用的研究〔J〕.离子交换与吸附,2008,24(4):305.
〔8〕 张锦雀,黄丽英,苏聪枚.中草药多糖提取分离纯化研究进展〔J〕.中药材,2008,31(11):1760.
〔9〕 林颖,吴毓敏,吴雯.天然产物中的糖含量测定方法正确性的研究〔J〕.天然产物研究与开发,1996,8(3):5.
〔10〕 谢红旗,周春山.香菇多糖脱色工艺研究〔J〕.离子交换与吸附,2007,23(2):158.
〔11〕 黄贱苟,徐满才,李海涛.D301 树脂对酚类的吸附热力学研究〔J〕.离子交换与吸附,2003,19(1):37.

〔责任编辑 仝燕〕

筛)约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 1 h,放冷,再称定质量,用 70% 甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,置圆底烧瓶中,蒸干,加 10% NaOH 溶液 50 mL,加热回流 2 h,放冷,用盐酸调节 pH 4~5,用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 50 mL,合并正丁醇液,回收溶剂至干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度摇匀。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取细叶远志皂苷对照品 6.95 mg,甲醇溶解,定至 5 mL,配成 1.39 g·L⁻¹ 的对照品溶液,精密移取 0.25,0.40,0.55,0.70,0.85 mL,置 1 mL 量瓶中,稀释至刻度。

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取上述系列对照品溶液 20 μL,注入高效液相色谱仪,记录峰面积,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。细叶远志皂苷回归方程为 $Y = 3 \times 10^6 X + 1.7 \times 10^5$ ($r = 0.999\,4$),远志皂苷在 0.347 5~1.390 0 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.1.5 精密度 精密吸取同一供试品溶液重复进样 6 次,测得细叶远志皂苷峰面积,RSD 1.82 %。

2.1.6 稳定性 分别精密吸取同一供试品溶液,于配制后 0~12 h 内每隔 2 h 进样测定,测得细叶远志皂苷峰面积,RSD 2.15 %。

2.1.7 重复性 取同一批供试品 6 份,按 2.1.2 项下方法,重复制备样品 6 份,进行测定,结果细叶远志皂苷的平均质量分数 2.43 %,RSD 3.59 %。

2.1.8 加样回收率 取已知含量细叶远志皂苷的供试品溶液,分别加入一定量细叶远志皂苷对照品,混匀,平行 6 份,按测定法测定,计算回收率,结果表明细叶远志皂苷的加样回收率 100.76 %,RSD 1.41 %。见表 1。

表 1 细叶远志皂苷加样回收率测定

No.	样品含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	382.25	34.75	415.58	99.65	100.11	0.42
2	382.25	34.75	418.63	100.39		
3	382.25	97.3	481.83	100.47		
4	382.25	97.3	480.24	100.14		
5	382.25	139.0	518.87	99.54		
6	382.25	139.0	523.74	100.48		

2.2 细叶远志皂苷提取的单因素考察

2.2.1 提取次数考察 准确称取远志药材 5 g,加入 70% 乙醇 50 mL,依次提取 5 次,每次 30 min,测定每次提取液中细叶远志皂苷的提取率分别为 2.96%,0.41%,0.25%,0.09%,0.07%,当提取次数为 3 次时,提取率占 5 次提取总量的 94.3%,基本提取完全,故选择提取次数为 3 次。

2.2.2 乙醇体积分数考察 准确称取远志药材 5 份,每份 5 g,加入体积分数分别为 60%,70%,80%,90%,100% 的乙醇 50 mL,分别提取 3 次,每次 30 min,合并提取液,测定细叶远志皂苷的提取率分别为 0.95%,1.20%,2.05%,2.45%,1.22%。随着乙醇体积分数的提高,提取率不断增加,当乙醇体积分数为 90% 时,细叶远志皂苷的提取率最高。

2.2.3 提取时间考察 准确称取远志药材 5 份,每份 5 g,分别加入 90% 乙醇 50 mL,依次提取 10,20,30,40,50 min,各提取 3 次,合并提取液,测定细叶远志皂苷的提取率分别为 1.93%,2.12%,2.25%,2.51%,2.46%。随着提取时间延长,提取率有所提高,当提取时间为 40 min 时,细叶远志皂苷提取率最高。

2.2.4 料液比考察 准确称取远志药材 5 份,每份 5 g,分别加入 6,8,10,12,14 倍量的 90% 乙醇 50 mL,各提取 3 次,每次 40 min,合并提取液,测定细叶远志皂苷的提取率分别为 1.97%,2.16%,2.02%,1.94%,1.92%。当料液比为 1:8 时,细叶远志皂苷的提取率最高。

2.3 正交试验设计 根据单因素试验的结果,确定以细叶远志皂苷提取率为指标,每次提取次数均为 3 次,考察乙醇体积分数、提取时间、乙醇用量 3 个因素对细叶远志皂苷超声提取的影响,以 L₉(3⁴) 正交表进行试验。因素水平见表 2,正交试验结果及方差分析见表 3,4。

表 2 细叶远志乙醇提取工艺因素水平

水平	A 乙醇体积分数 /%	B 提取时间 /min	C 乙醇用量 /倍
1	80	30	6
2	90	40	8
3	100	50	10

以细叶远志皂苷提取率为指标,由表中的极差 R 的大小显示,各因素作用主次为 A>B>C。方差分析表明,A 因素 P<0.05,即乙醇体积分数对于试验结果具有显著性意义。由上表得最佳提取工艺组合为 A₂B₂C₃。即以 10 倍量 90% 乙醇提取 3 次,

每次 40 min。

表 3 细叶远志乙醇提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	细叶远志 皂苷提取 率/%
1	1	1	1	1	1.32
2	1	2	2	2	1.47
3	1	3	3	3	1.41
4	2	1	2	3	1.66
5	2	2	3	1	2.23
6	2	3	1	2	1.62
7	3	1	3	2	0.89
8	3	2	1	3	0.92
9	3	3	2	1	0.97
K_1	1.400	1.290	1.287	1.507	
K_2	1.837	1.540	1.367	1.327	
K_3	0.927	1.333	1.510	1.330	
R	0.910	0.250	0.223	0.180	

表 4 细叶远志乙醇提取工艺方差分析

因素	SS	f	F	P
A	1.243	2	19.534	<0.05
B	0.107	2	1.683	
C	0.077	2	1.207	
误差	0.06	2		

注： $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

2.4 验证试验 以细叶远志皂苷提取率为指标,按照通过正交试验优选出最佳的工艺,进行 3 批重复性实验,每批提取 5 份样品。结果平均提取率分别为 2.24% ,2.25% ,2.25% 。

3 讨论

采用正交设计法优化超声提取细叶远志皂苷的工艺,最终确定最佳提取工艺较稳定可行,且超声提取法节约时间、能源。但超声法提取在工业大生产上对超声设备有较高的要求,对工业生产有一定的局限性。

本试验首次参照 2010 年版《中国药典》,对远志总皂苷进行碱水解,水解产物单一,水解条件容易控制^[8]。超声法提取细叶远志皂苷的工艺操作简单、省时、稳定、可行,为细叶远志皂苷的提取开辟了新途径,为远志皂苷的进一步研究奠定了条件。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:146.
[2] 姜勇,屠鹏飞.远志研究进展[J].中草药,2001,32(8):759.
[3] 彭汶铎,许实波.四种远志皂苷的镇咳和祛痰作用[J].药学杂志,1998,33(8):491.
[4] Nikaido T,Ohmoto T,Saitoh H,et al. Inhibition of cyclic a—adenosines monophosphate phosphodiesterase in *Polygalae tenuifolia*[J]. Chem Pharm Bill, 1982,30(6):2020.
[5] 胡媛.远志三萜酸类成分的提取纯化工艺及质量标准研究[D].成都:成都中医药大学,2006.
[6] 韩毅丽.超声提取远志总皂苷的研究[J].山西医药杂志,2010,39(11):1051.
[7] 鄢丹.远志皂苷的提取及药材质量标准研究[D].成都:成都中医药大学,2004.
[8] Pelletier S W,Nakamura S,Soman R,et al. Constituents of Poly-gala species The structure oftenuifolin, a prosapogenin from *P. seuega* and *P. tenuifolia* [J]. Tetrahedron,1971,27:4417.

[责任编辑 仝燕]