

牛蒡子、威灵仙提取工艺优选

潘激扬,倪健*,尹兴斌

(北京中医药大学中药学院,北京 100102)

[摘要] 目的:探讨牛蒡子、威灵仙提取的优化条件。方法:以牛蒡子苷、齐墩果酸含量为指标,确定乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间为影响因素,并以 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排试验。结果:牛蒡子、威灵仙最优工艺为用 10 倍量 60% 乙醇提取 2 次,每次 1.5 h。结论:优选的提取条件效率高,可增加药材的利用率。

[关键词] 牛蒡子;威灵仙;提取工艺;正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0039-03

Optimization of Extraction Technology of Great Burdock Achene and Root of Chinese Clematis

PAN Ji-yang, NI Jian*, YIN Xing-bin

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction process of Fructus Arctii and Radix Clematidis. **Method:** Orthogonal design method was used with the extract yield of Fructus Arctii and Radix Clematidis and the extract amount of arctiin and oleanolic acid as observing indexes. **Result:** The optimum extraction process was as follows: adding 10 times of 60% alcohol into coptis meal, refluxing and extracting for 2 times, half and an hour every time. **Conclusion:** This optimized process is simple, stable and efficient.

[Key words] Fructus Arctii; Radix Clematidis; extraction process; orthogonal design.

痛风是一种慢性代谢紊乱疾病,它的主要特点是体内尿酸盐生成过多或肾脏排泄尿酸减少,从而引起血液中尿酸盐浓度升高,临床上称为高尿酸血症。中医治疗痛风的原则是以清热利湿、活血通络为法,加之中药中所含的一些生物成分,促进尿酸的排泄^[1]。

牛蒡子为菊科二年生大型草本植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的成熟果实,具有疏散风热、宣肺透疹、解毒利咽的功效,含牛蒡子苷、牛蒡酚 A、B、脂肪油等化学成分,主要有效成分为牛蒡子苷^[2]。威灵仙为毛茛科植物威灵仙 *Clematidis chinensis* Osbeck、棉团铁线莲 *C. hexapetala* Pall 或东北铁线莲 *C.*

manshurica Rupr 的根及根茎,具有祛风除湿,通络止痛的功效,主要用于风湿痹痛、肢体麻木、筋脉挛急、屈伸不利等症状,含有多种三萜类皂苷,主要成分为齐墩果酸、白头翁素等^[3]。牛蒡子、威灵仙是一中医治疗痛风经验方,原为汤剂,现拟通过工艺优化研究,最大限度地提取其有效成分、发挥其疗效,并适合工业生产。牛蒡子中有效成分牛蒡子苷具有一定的水溶性和脂溶性,王小琳等^[4]通过研究证明牛蒡子的乙醇回流提取法中牛蒡子苷的提取率高于水煮法的提取率,因此在实验中采用乙醇回流提取作为考察方法。

本实验以牛蒡子苷含量和齐墩果酸含量为指标,考察了乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间对牛蒡子、威灵仙有效成分提取的影响,为牛蒡子、威灵仙化学成分研究及有效成分的合理利用提供基础。

1 仪器与试剂

安捷伦 1100 高效液相色谱仪;牛蒡子苷对照品

[收稿日期] 20100728(002)

[第一作者] 潘激扬,实验员,研究方向:中药制药工艺研究

[通讯作者] *倪健,教授,博士生导师,研究方向:中药新剂型与新技术, E-mail: njtcm@263.net

(中国生物制品检定所,批号 110819-200505);齐墩果酸对照品(中国生物制品检定所,批号 120345-200506);甲醇(天津市西华特种试剂厂)为色谱纯;乙腈(天津市西华特种试剂厂)为色谱纯;水为重蒸馏水;其余试剂均为分析纯;牛蒡子(购于河北省安国市以岭中药饮片有限公司,批号 061002);威灵仙(购于河北省安国市以岭中药饮片有限公司,批号 061002),药材饮片经北京中医药大学中药学院刘春生教授鉴定合格。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 牛蒡子苷色谱条件 Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(52:48),检测波长 280 nm。见图 1。

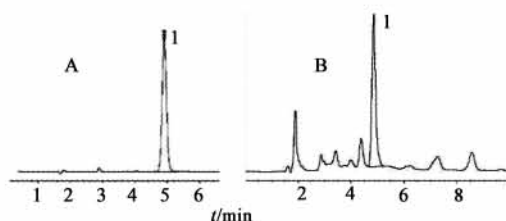


图 1 牛蒡子 HPLC

A. 对照品; B. 样品; 1. 牛蒡子苷

2.1.2 齐墩果酸色谱条件 Hypersil ODS2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05% 乙酸溶液(87:13),检测波长 215 nm。见图 2。

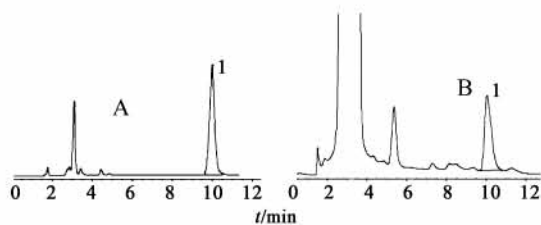


图 2 威灵仙 HPLC

A. 对照品; B. 样品; 1. 齐墩果酸

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取牛蒡子苷和齐墩果酸对照品适量,加甲醇制成 0.217, 0.460 g·L⁻¹ 的溶液。

2.3 样品溶液的制备

2.3.1 牛蒡子样品溶液 取牛蒡子粉末,研细,过 40 目筛,减压干燥至恒重,精密称定 0.5 g,置 50 mL 量瓶中,加甲醇 20 mL,超声处理 30 min,置 25 mL 量瓶中定容。

2.3.2 威灵仙样品溶液 取威灵仙粉末,研细,过 40 目筛,减压干燥至恒重,精密称定 1 g,置圆底烧

瓶中,加 40 mL 1 mol·L⁻¹ HCl,加热回流水解 4h,冷却后加入 40 mL 三氯甲烷继续回流 1 h,冷却后在分液漏斗中分离三氯甲烷层,残渣用 30 mL 三氯甲烷萃取 2 次,合并三氯甲烷层,回收三氯甲烷至 1~2 mL,移入 10 mL 量瓶定容。

2.4 标准曲线绘制

2.4.1 牛蒡子苷 吸取对照品储备液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10 μL 进样,以对照品吸收峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得到牛蒡苷的回归方程为 $Y = 1382.4885X + 0.2$ ($r = 0.9998$),表明牛蒡苷在 0.434~2.17 μg 呈现良好的线性关系。

2.4.2 齐墩果酸 吸取对照品储备液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 14.0, 18 μL 进样,以对照品吸收峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得到牛蒡苷的回归方程为 $Y = 1229.2689X + 63.0102$ ($r = 0.9997$),表明齐墩果酸在 0.92~8.28 μg 呈现良好的线性关系。

2.5 正交试验因素与水平 确定乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间为影响因素,每个因素 3 个水平,并以 L₉(3⁴) 正交试验表安排试验。见表 1。

表 1 牛蒡子、威灵仙乙醇提取正交设计

水平	A 乙醇体积分数/%	B 乙醇用量/倍	C 提取时间/h
1	50	6	0.5
2	60	8	1
3	70	10	1.5

2.6 正交试验方法与结果 牛蒡子粉碎成粗粉,分别称取牛蒡子 25 g 和威灵仙 15 g 9 份,按表 1 的设计进行提取,提取 2 次,滤过,合并滤液,减压回收乙醇,浸膏减压干燥,按 2.1 项下条件测定含量,结果见表 2。方差分析见表 3。

由方差分析的结果,可以看出乙醇体积分数 A 和提取时间(C)无显著影响,乙醇用量(B)影响显著且最优加醇量为 3 水平中最高水平,因此为了确定乙醇用量(B)的最优水平,进行了乙醇用量(B)的单因素考察,试验设计及结果见表 4。

结果表明,乙醇加入量为 12 倍时提取效果略好于加入 10 倍量的提取效果,但考虑有机溶剂成本、制剂工艺和患者服用量等问题,最终确定乙醇加入 10 倍量为最终工艺,即最优工艺为 60% 乙醇,10 倍量,提取 1.5 h。

表2 牛蒡子、威灵仙乙醇提取正交试验

No.	A	B	C	D	牛蒡子苷 $X/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	齐墩果酸 $Y/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	综合 评分
1	1	1	1	1	17.20	6.11	75.38
2	1	2	2	2	18.77	6.52	81.42
3	1	3	3	3	21.15	8.43	97.90
4	2	1	2	3	17.82	7.23	83.21
5	2	2	3	1	18.43	7.98	88.91
6	2	3	1	2	18.82	8.80	94.49
7	3	1	3	2	18.62	6.81	82.71
8	3	2	1	3	17.64	7.77	85.85
9	3	3	2	1	19.82	8.65	96.00
K_1	84.90	80.43	85.24	86.76			
K_2	88.87	85.39	86.88	86.21			
K_3	88.19	96.13	89.84	88.99			
R	3.97	15.70	4.60	2.78			

注:牛蒡子、威灵仙均为方中臣药,在处方中所占权重相同,因此确定综合评分=50X/21.15+50Y/8.80

表3 方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	27.065	2	2.089	
B	383.357	2	29.821	<0.05
C	32.625	2	2.518	
误差 Se	12.956	2	1	

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

表4 乙醇用量的单因素考察

No.	乙醇用量/倍	牛蒡子苷 X $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	齐墩果酸 Y $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	综合 评分
1	6	17.99	7.43	84.75
2	8	18.43	7.98	88.91
3	10	21.09	8.84	100.09
4	12	21.12	8.94	100.72

2.8 验证试验 根据上述结果筛选的工艺进一步验证前面工艺的正确性。结果见表5。

表5 牛蒡子、威灵仙提取工艺验证试验

药材	浸膏 /g	样品 /g	质量分数 $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	出膏率 /%	转移率 /%
牛蒡子	10.2	0.5002	21.09	25.75	60.1
威灵仙	10.2	1.0156	8.84	25.75	66.8

3 结果与讨论

乙醇提取是中药提取中提取脂溶性成分常用的方法,本实验根据牛蒡子、威灵仙所含成分的性质,选择乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间为关键因素,以牛蒡子苷和齐墩果酸含量为指标,通过正交工艺对醇提工艺进行优化,最佳工艺为10倍量60%乙醇,提取2次,每次1.5h。这一结论在筛选最佳工艺的验证实验中也得到了很好的证明,为牛蒡子、威灵仙的制备工艺提供了可靠的科学依据。

牛蒡子、威灵仙所在的中医治疗痛风的经验方为中药复方,共由7味中药组成,乙醇加入量的增加一方面提高了生产成本,另一方面也增加了出膏率,并相应的增加了制剂过程中的辅料用量,从而增加了患者的服药剂量。综上所述,虽然乙醇加入量为12倍时提取效果略好于加入10倍量的提取效果,但考虑成本、制剂工艺和患者服用量等问题,最终确定乙醇加入10倍量为最终工艺。

[参考文献]

- [1] 孙龙. 痛风的临床治疗研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2006, 20(3): 229.
- [2] 龚又明, 刘利根, 宋科峰, 等. 牛蒡子的研究进展[J]. 海峡药学, 2005, 17(4): 1.
- [3] 典灵辉. 中药材威灵仙的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2004, 19(5): 231.
- [4] 王小琳, 张玉杰, 石任兵. 正交实验设计优选牛蒡子的提取工艺[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(4): 64.

[责任编辑 全燕]