

血竭中血竭素的提取方法比较

邱碧菡¹, 陈军霞², 卞凌², 潘林梅^{1*}

(1. 南京中医药大学中药复方分离工程重点实验室, 南京 210029; 2. 南京妇幼保健院, 南京 210029)

[摘要] 目的: 优化血竭药材的提取方法。方法: 以血竭素的含量为指标, 采用 HPLC 比较浸渍法、索氏提取法和超临界 CO₂ 萃取 (SFE-CO₂) 法对血竭药材的提取效果。结果: SFE-CO₂ 得到的血竭素含量较高。结论: SFE-CO₂ 适用于血竭的提取。

[关键词] 血竭; 血竭素; 提取; SFE-CO₂; HPLC

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0022-03

Comparative Study on Extraction of Dracorhodin from Draconis Sanguis

QIU Bi-han¹, CHEN Jun-xia², BIAN Ling², PAN Lin-mei^{1*}

(1. Key Laboratory of Separation Engineering of Chinese Traditional Medicine Compound, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;
2. Nanjing Maternal and Child Health Hospital, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the techniques for the extraction of dracorhodin from Draconis Sanguis. **Method:** With the content of dracorhodin as the index, observations were made on the effect of different methods of extraction by HPLC. **Result:** High content of dracorhodin was obtained by SFE-CO₂ relatively. **Conclusion:** SFE-CO₂ is a workable technique for the extraction of dracorhodin from Draconis Sanguis.

[Key words] Draconis Sanguis; dracorhodin; extraction; SFE-CO₂; HPLC

血竭为传统名贵中药, 被誉为“活血之圣药”, 具有活血定痛、化瘀止血、敛疮生肌的功效。2010 版《中国药典》收录的血竭为棕榈科植物麒麟竭 *Daemonorops draco* Bl. 果实渗出的树脂经加工制成^[1]。血竭中含有黄酮类、苷类、酚类、有机酸等多种化学成分, 其中血竭素是其主要药效成分之一。本文以血竭素的含量为指标, 采用 HPLC 比较了浸渍法、索氏提取法和超临界 CO₂ 萃取法对血竭药材的提取效果, 为血竭提取方法的改进提供了初步的实验依据。

1 仪器与试剂

HA221-50-06 超临界萃取装置 (江苏南通华安

超临界萃取有限公司); Waters 1525 系列高效液相色谱仪 (1525 HPLC 泵, 2487 Dual λ Absorbance Detector, Empower 工作站) 等。

血竭素高氯酸盐对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110811-200704, 含量测定用); 血竭药材购于南京市中医院, 经本校生药学教研室吴启南教授鉴定, 符合 2010 年版《中国药典》规定。乙腈、甲醇 (色谱纯), 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 血竭药材的提取及供试品溶液的制备

2.1.1 浸渍法 称取血竭药材粗粉 9.70 g 于具塞锥形瓶中, 以 100 mL 70% 乙醇冷浸 24 h, 冷浸液过滤, 取续滤液, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 得供试液 1; 称取血竭药材粗粉 9.70 g 于具塞锥形瓶中, 以 100 mL 70% 乙醇于 40 $^{\circ}$ C 下热浸 24 h, 热浸液过滤, 取续滤液, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 得供试液 2。

2.1.2 索氏提取法^[2] 称取血竭药材粗粉 9.70 g 于索氏提取器中, 用 50 mL 的石油醚、三氯甲烷、乙

[收稿日期] 20101125(005)

[基金项目] 南京医学科技重点项目 (ZYX09011)

[第一作者] 邱碧菡, 硕士研究生, 从事生物药剂学和中药新药的研究, E-mail: bihan198612@yahoo.cn

[通讯作者] * 潘林梅, 从事中药制备高新技术研究, E-mail: linmeip@yahoo.com.cn

酸乙酯、丙酮依次进行4步索氏抽提,提取时间分别为24,36,36,24 h,提取温度分别为90,70,90,70℃。将4步提取物用旋转蒸发器将溶剂回收尽,残留物各以50 mL甲醇溶解,过0.45 μm微孔滤膜,得供试液3~6。

2.1.3 SFE-CO₂法 称取经适当粉碎后的血竭药材140 g,装入超临界萃取罐中,在压力为15 MPa、温度为50℃、流量为20 L·h⁻¹的条件下萃取3 h,得血竭超临界CO₂萃取物。取上述萃取物50 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,以3%磷酸甲醇超声溶解并稀释至刻度。精密量取1 mL,置5 mL量瓶中,甲醇定容,过0.45 μm微孔滤膜,得供试液7。

2.2 血竭素的含量测定

2.2.1 色谱条件 Lichrospher C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钠(40:60),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长440 nm;柱温40℃,进样量10 μL。见图1。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取血竭素高氯酸盐对照品9.5 mg,置于50 mL量瓶中,以3%磷酸甲醇溶解,精密量取2 mL于5 mL量瓶中,甲醇定

容,得0.076 g·L⁻¹的对照品溶液(血竭素质量=血竭素高氯酸盐质量/1.377)。

2.2.3 线性关系 将0.076 g·L⁻¹的血竭素高氯酸盐对照品溶液分别稀释2,4,6,8,16倍,得一系列的对照品溶液,分别为0.038,0.019,0.009 5,0.004 75,0.002 375 g·L⁻¹,过0.45 μm微孔滤膜。在上述色谱条件下,进样10 μL,记录峰面积。峰面积(Y)对质量浓度(X)的回归方程为 $Y = 4 \times 10^7 X - 1.7 \times 10^4$ ($R^2 = 0.999 5$),血竭素高氯酸盐在0.002 375~0.076 g·L⁻¹线性关系良好。

2.2.4 精密度 精密吸取0.038 g·L⁻¹对照品溶液,重复进样5次,RSD 1.78%。

2.2.5 重复性 同一批样品取5份,制备成供试液3,分别按2.2项下操作测定,RSD为1.84%。

2.2.6 稳定性 供试液3制成的当天测1次,之后每隔24 h测1次,共测5次,RSD 2.91%。

2.2.7 加样回收率 精密称取3份血竭素高氯酸盐9.5 mg于50 mL量瓶中,以3%磷酸甲醇溶解,得0.19 g·L⁻¹的对照品溶液。取已测含量的血竭供试液3于10 mL量瓶中,加入血竭素高氯酸盐对照品

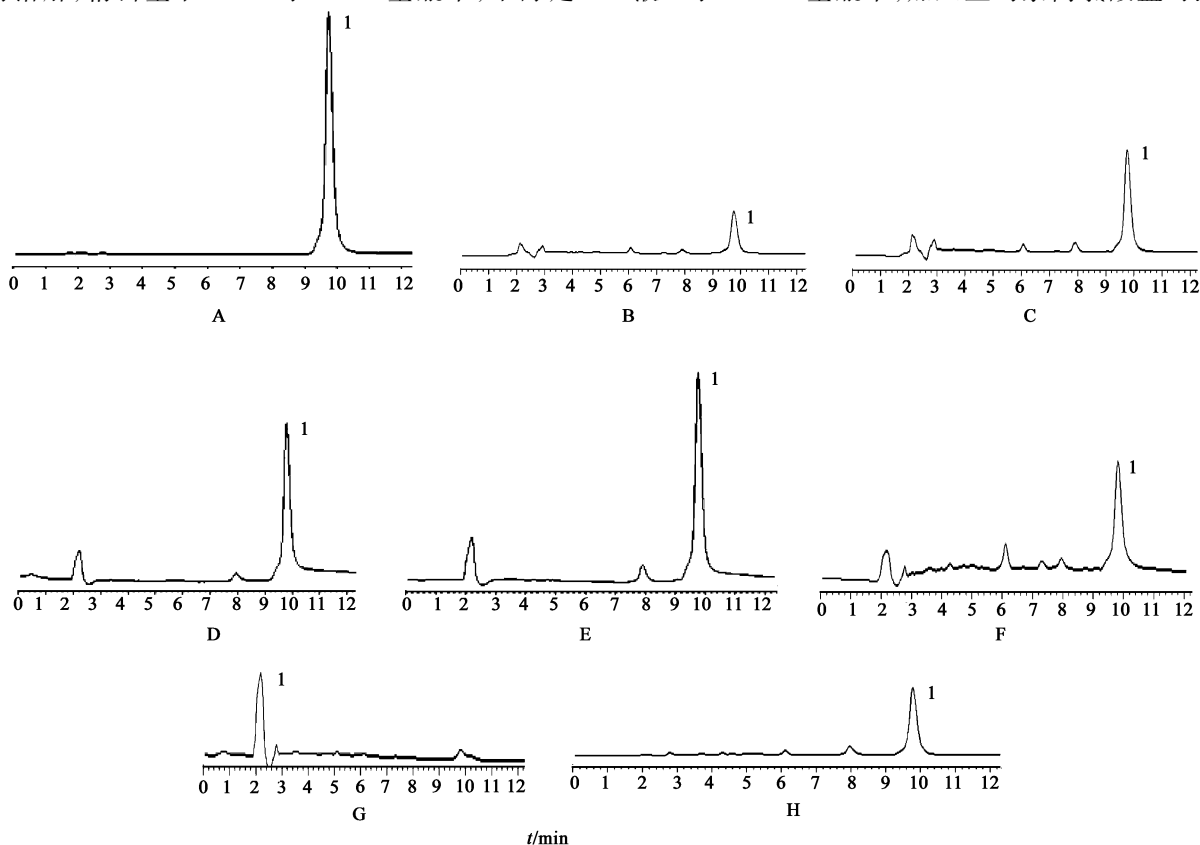


图1 不同提取方法血竭素 HPLC

A. 对照品;B. 乙醇冷浸;C. 乙醇热浸;D. 石油醚抽提;E. 三氯甲烷抽提;F. 乙酸乙酯抽提;G. 丙酮抽提;H. SFE-CO₂; 1. 血竭素高氯酸盐

溶液,使加入的血竭素含量分别达到样品中的 80%,100%,120%,按样品测定方法测定,3 个质量浓度血竭素的回收率分别在 97.6% ~ 103.0%, 99.2% ~ 102.2%, 96.3% ~ 99.8%, 平均回收率分别为 100.17%, 100.59%, 98.17%, RSD 分别为 2.71%, 1.52%, 1.79%。

2.2.8 不同方法提取的血竭中血竭素的含量 结果见表 1。

表 1 不同方法提取的血竭中血竭素的含量

供试液	提取方法	提取溶剂	血竭素/%
1	浸渍法	乙醇冷浸	0.015 3
2		乙醇热浸	0.034 1
3	索氏	石油醚	0.040 3
4		三氯甲烷	0.053 3
5		乙酸乙酯	0.030 5
6		丙酮	0.042 6
7	SFE-CO ₂	CO ₂	0.189

注:索氏提取总血竭素质量分数总和为 0.128%。

3 讨论

由表 1 数据可看出,索氏提取法和 SFE-CO₂ 获得的血竭素含量较高。索氏提取法采用了有机相极性梯度萃取,获得全部血竭的提取物。但索氏提取法温度较高,血竭为树脂类中药,高温下易黏结成块,且石油醚和氯仿等有机溶剂提取后会有所残留,对人体健康不利;耗时较长,因此不利于工业化大生

产上缩短运行周期。SFE-CO₂ 以 CO₂ 为溶剂,可克服以上缺点,尤其适用于血竭等含脂溶性成分较多物质的提取,同时又避免了有机溶剂的残留,对环境也没有污染。虽有造价高、导致产品成本升高的缺点,但可得到纯度较高的有效成分提取物,减少了贵重药材的使用量,且节约了后续处理的时间,缩短了整个生产周期,整体来说还是有利于工业化大生产的。

超临界萃取技术作为一种新型的绿色化工技术,在中药有效成分的提取分离领域中具有广阔的应用前景。影响 SFE-CO₂ 的因素很多,如压力、温度、萃取时间及物料粒度、CO₂ 流量、分离压力和夹带剂种类等。有文献报道 SFE-CO₂ 获得的血竭素含量可达 1% 以上^[3],本实验的得率相对偏低,因此上述因素对血竭 SFE-CO₂ 过程中的影响有待于进一步探索,优选出血竭 SFE-CO₂ 的最优工艺参数。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2010:133.
 [1] 雍克岚,吕敬慈,黄茂华,等.中药血竭提取物的制备方法,中国 1528385[P],2004-09-15.
 [3] 李平华.血竭超临界萃取工艺研究[J].中国药业,2008,17(12):61.

[责任编辑 全燕]

欢迎订阅 2011 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、药理、临床、综述、学术交流、基层园地、消息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,290 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2011 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com