

超声法提取中药制剂中醇溶性成分的研究

刘振华^{1,2}, 李炳奇¹, 刘红¹, 孙萍¹, 石伟¹

(1. 石河子大学化学化工学院, 新疆 石河子 832000) (2. 石河子大学生命科学学院, 新疆 石河子 832000)

摘要: 以超声时间、提取温度、乙醇浓度和固液比为因素, 每因素进行3水平的正交实验, 用紫外分光光度法测定中药制剂——促生长散中厚朴酚的含量和以其作为综合评价指标。结果发现提取实验中影响因素最大的是乙醇浓度, 最佳提取条件为: 超声时间60 (20, 20, 20) min, 超声温度35℃, 乙醇浓度65%, 固液比1:10。

关键词: 超声提取; 正交设计; 含量测定

中图分类号: TQ460.7; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2007)01-0035-03

Extraction of Alcohol-soluble Components from an Chinese Traditional Medicine

Assisted by Ultrasonic Method

LIU Zhen-hua^{1,2}, LI Bing-qi¹, LIU Hong¹, SUN Ping¹, SHI Wei¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

(2. College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: The best condition of ethanol extraction of Magnolol from drug "herbal medicine of promoted growth" assisted by ultrasonic wave was studied in this paper. The orthogonal design showed that the best ultrasound time, temperature, ethanol concentration and solid-liquid ratio were 60 min (three times and 20 min per time), 35℃, 65% and 1:10, respectively. Moreover, ethanol concentration was shown to be the most important influential factor among the investigated factors.

Key words: Ultrasonic extraction; Orthogonal experiment; Determination

石河子大学研究开发的促进羔羊育肥的中药添加剂“促生长散”, 为农业部“九五”重点项目“中草药添加剂提高畜禽生产性能的研究”成果之一。它是一种纯中药制剂, 由厚朴、麦芽、槟榔等中药材构成, 含有较多的醇溶性成份, 多年来应用效果良好, 但尚存在很多不足: 口感差、药效发挥时间慢、有效成分利用率低、产品易发霉变质、不易贮存、质量可控性差等。为了提高“促生长散”产品的科技含量, 实现中兽药产品“稳定、高效、可控”的质量要求, 本研究拟采用超声辅助技术对“促生长散”中的醇溶性成分进行提取, 为有效成分的高效利用奠定基础。

1 试验部分

1.1 主要仪器

LD 隆达 HF—2.5B 超声循环提取机(北京弘祥隆生物技术开发有限公司), 碱式滴定管(50ml), TDL-5 台式离心机(上海安亭仪器厂), 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司), DL-360A 超声仪(上海之信仪器有限公司), RE52-05 旋转蒸发器(上海亚荣生化

收稿日期: 2006-07-07

仪器厂), SHZ-CB 型循环水式多用真空泵(河南巩义市英峪宁华仪器厂), ZK-82A 型电热真空干燥箱(上海实验仪器厂有限公司)。

1.2 试剂和材料

“促生长散”(厚朴、槟榔、麦芽等)(石河子医药公司), 厚朴酚标准品(中国药品生物制品检定所), 95%乙醇(A.R)

2 标准曲线的制备

分别精密吸取不同量的厚朴酚的对照品溶液, 加乙醇稀释至一定浓度, 在 294nm 处测定吸收度。以吸收度为纵坐标, 样品溶液浓度为横坐标绘制标准曲线, 得一条直线, 数据经回归分析: 厚朴酚 $Y = -0.0070 + 0.0594X$, $r = 0.9991$, 线性化范围为 5.20~15.60 $\mu\text{g/ml}$ 。

3 实验步骤

3.1 单因素实验

3.1.1 超声时间

取 8 份“促生长散”, 每份 10.00g, 分别加入 75% 的乙醇 100mL, 在室温下进行超声提取, 提取时间分

别为 10min、15min、20min、25min、30min、35min、40min、45min，测定厚朴酚的吸光度，并计算含量。

3.1.2 超声温度

温度过低，会影响厚朴酚在提取溶剂中的溶出；温度过高，乙醇的挥发严重，而且杂质溶出增加；高温消耗大量能源，提高生产成本。综合考虑，选定 25℃、35℃、45℃ 进行正交实验。

3.1.3 乙醇浓度

取 5 份“促生长散”，每份 10.00g，分别加入 95%、85%、75%、65%、55% 的乙醇 100ml，在室温下超声提取 30min，测定厚朴酚的吸光度，并计算含量。

3.1.4 固液比

固液比不同提取效果不同，实验发现固液比太大，影响超声提取器的循环和搅拌；固液比太小，浪费溶剂，提高成本，而且给后处理带来困难。在对大量文献资料综合分析的基础上，结合试验具体情况，选定固液比为 1:8、1:10 和 1:12 进行正交实验。

3.1.5 超声次数

取 4 份“促生长散”每份 10.00g，分别加入 75% 的乙醇 100ml，在室温下进行超声提取，分别提取 1 次、2 次、3 次、4 次，每次 30min，测定厚朴酚的吸光度，并算出它的含量。

3.2 正交实验

在单因素实验的基础上，对影响厚朴酚提取效果的几个主要因素（超声时间、超声温度、乙醇浓度和固液比），每个因素 3 个水平，用 L₉ (3⁴) 进行正交实验设计，选择最佳的提取条件。

4 结果与讨论

4.1 单因素实验结果

4.1.1 超声时间对提取效果的影响（见图 1）。

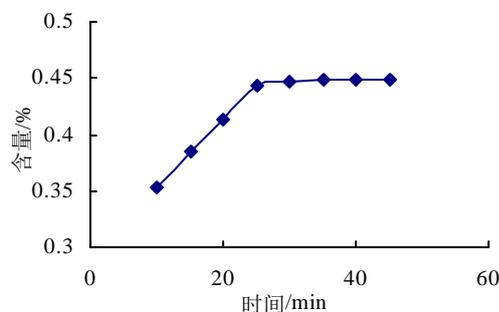


图 1 超声时间对提取结果的影响

从图 1 可看出，随着提取时间的增加，厚朴酚的含量也在增加，25min 后增长趋缓，厚朴酚的含量基本不变，因此选择 20min 左右进行正交实验。

4.1.2 超声次数对提取效果的影响（见图 2）

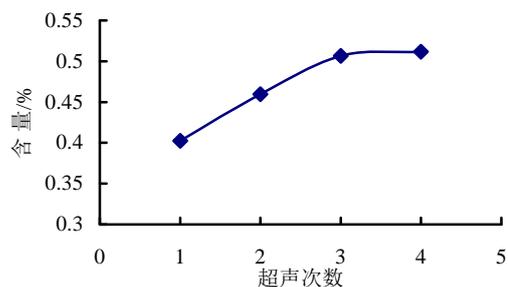


图 2 超声次数与含量的关系

从图 2 可看出，提取次数越多，厚朴酚的含量越高，但是当提取 3 次后含量增长甚微，因此选择提取三次进行正交实验。

4.1.3 乙醇浓度对提取效果的影响（见图 3）

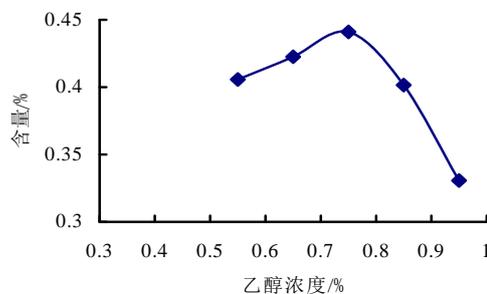


图 3 乙醇浓度与含量的关系

从图 3 结果可看出，随着乙醇浓度的增加，厚朴酚的含量也在增加，到 75% 以后厚朴酚的含量逐渐减少，因此选择 75% 左右进行正交实验。

4.2 正交实验设计结果

在讨论单因素影响的基础上，为探讨各条件参数相互影响，试验中设计了四因素三水平正交试验，确定应用 L₉ (3⁴) 进行正交实验设计。结果分别见表 1 和表 2。

从表 2 知厚朴酚最佳提取条件是 A₂B₂C₁D₂，即超声时间 60 (20, 20, 20) min，超声温度 35℃，乙醇浓度 65%，固液比 1:10。根据极差分析影响厚朴酚提取因素大小为：乙醇浓度>固液比>超声温度>超声时间。该提取工艺影响因素最大的是乙醇浓度，最小的是超声时间。

表 1 因素水平表

A.超声时间 /min	B.超声温 度/℃	C.乙醇浓 度/%	D 固液比 /g:ml ⁻¹
45(15,15,15)	25	65%	1:8
60(20,20,20)	35	75%	1:10
75(25,25,25)	45	85%	1:12

表 2 L₉ (3⁴) 正交设计及结果

序号	A	B	C	D	厚朴酚含量/%
1	1	1	1	1	0.4735
2	1	2	2	2	0.4987
3	1	3	3	3	0.4524
4	2	1	2	3	0.4914
5	2	2	3	1	0.4482
6	2	3	1	2	0.5198
7	3	1	3	2	0.4588
8	3	2	1	3	0.5145
9	3	3	2	1	0.4809
K1	1.4246	1.4237	1.5078	1.4026	
K2	1.4594	1.4614	1.4710	1.4773	
K3	1.4542	1.4531	1.3815	1.4583	
R	0.0348	0.0377	0.1263	0.0747	

4.3 验证实验结果

取“促生长散”10.00g,加入65%的乙醇100mL。根据筛选得到的最佳提取条件 $A_2B_2C_1D_2$ 平行提取3次。分别测定厚朴酚的含量。结果见表3。

表3 验证实验结果

标号	1	2	3
平均吸光度	0.247	0.248	0.246
厚朴酚含量	0.5345%	0.5366%	0.5324%

经验证实验,根据最佳的提取条件所测得的厚朴

酚的含量均大于正交设计中的含量.所得的结果正确。

5 结论

5.1 “促生长散”中醇溶性成分主要来源于厚朴、槟榔、麦芽等,本实验采用厚朴酚为评价指标,方法简便,合理可行。

5.2 “促生长散”中醇溶性成分的最佳提取条件为:超声时间60(20,20,20)min,超声温度35℃,乙醇浓度65%,固液比1:10。超声法提取“促生长散”中醇溶性成分简单方便,提取时间短,提取效果好。

参考文献

- [1] 贾玉海.常用中药八百味精要[M].北京:学苑出版社,2001.254
- [2] 陈随清.薄层色谱-紫外分光光度法测定痞满消冲剂中厚朴酚及和厚朴酚的含量[J].中国实验方剂学杂志.2000,6(4):8-9
- [3] S. C. Lee, S. C. Zou., K. F. Ho, L. Y. Chan, Direct ultrasonic agitation for rapid extraction of organic matter from airborne particulate[J]. Fresenius J Anal Chem.,2001,(369):166-169
- [4] 宁丽坤,封丽彬,方成初. HPLC 法测定保济丸中厚朴酚及和厚朴酚的含量[J]. 时珍国药研究,1997,8(3):220

(上接第29页)

淋巴细胞的增殖。结果表明,江蓠多糖经 DEAE-Sephrose FF 离子交换分离得到的不同多糖组分对小鼠脾淋巴细胞的作用不同。多糖 GTLSP 是制造低电内渗琼脂糖的原料,其硫酸基含量极低,对淋巴细胞培养增殖无作用;多糖 GTHSP 含有大量的硫酸基,是一种阴离子多糖,在 62.5~500μg/ml 浓度范围内对淋巴细胞有显著增殖作用。总结海藻多糖免疫调节活性不但与海藻种类、多糖构成、硫酸基的结合状态有关,而且与多糖中硫酸基含量有极大的关系。

3 讨论

海藻多糖具有较高的免疫调节能力。半叶马尾藻可以显著抑制 S-180 小鼠瘤体生长,提高小鼠血清中 SOD、GSH-P_x 的酶活,显示藻多糖可以提高抗氧化能力和机体免疫功能从而抑制肿瘤生长^[5]。活性多糖的生物学保护作用可通过其抗氧化功能提高免疫防御和免疫监视,增强器官的抗氧化作用,减少其细胞的病理变化,保护和维持机体的重要生命活动,提高机体免疫能力。

本文体外细胞实验分析了江蓠多糖对肿瘤细胞

和脾淋巴细胞增殖的影响。结果表明江蓠硫酸酯多糖无直接杀伤肿瘤细胞活性,但对淋巴细胞增殖具有一定的作用,提示其可作为一种免疫调节功能的活性成分,调节机体的免疫状况。

参考文献

- [1] Okam, Maedas et al. A modified caloritric MTT assay adapted for primary cultured hepatocytes:application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1992,56(9):1472-3147.
- [2] 江振友,林晨.灵芝多糖对小鼠细胞免疫功能调节作用的实验研究[J].微生物学杂志,2003,23(2):51-54.
- [3] Wattenberg LW. Chemoprevention of cancer [J]. Cancer Res, 1985,45(1): 1-8.
- [4] Shan BE, Yoshida Y, Kuroda E, et al. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro [J]. Int J Immunoharmacol, 1999, 21(1):59-70.
- [5] 刘秋英,孟庆勇.半叶马尾藻多糖体内抗肿瘤作用及其机制探讨[J].第一军医大学学报,2004,24(4):434-436.