

穿心莲内酯提取方法的研究

陈光龙,殷静远(深圳市宝安人民医院, 广东 深圳 518101)

摘要:目的 研究穿心莲内脂不同的提取方法。方法 采用乙醇冷浸法、乙醇加热回流提取法、浸泡一超声波处理法、冷浸一超声波振荡提取法。结果 上述四种方法通过 HPLC 测定其内脂含量分别为 1.322%、1.052%、1.426%、1.503%。结论 冷浸一超声波振荡提取法有效成分穿心莲内脂得率为最高,工艺简单可行。
关键词:穿心莲内脂;提取工艺;高效液相色谱法

穿心莲为爵床科植物,其主要有效活性成分为穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯。由于它具有增强机体吞噬细胞功能,对急性菌痢、肠类、扁桃腺炎、腮腺炎、咽炎、气管炎、轻症肺炎以及皮肤软组织感染等有一定治疗作用。

参照中国药典 1995、2000 年版一部穿心莲原料药及制剂的质量标准,并对近十年文献资料进行了调研。在此基础上提出用四种提取方法对本品进行研究:即乙醇冷浸法、乙醇加热回流提取法^[1]、浸泡一超声波处理法^[2]和冷浸一超声波振荡提取法,进行了比较研究,并对冷浸一超声波振荡提取法的各种提取条件按四因素三水平正交设计进行平行实验比较,考察了各种条件对提取率的影响。由此,提出了初步的优化提取方案。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Waters 公司),紫外检测器,C₁₈柱 4.6×250mm,5μm;超声波清洗器 SB-3200,350W(上海必能信超声有限公司)。

1.2 试剂

穿心莲药材粗粉(广州思拓工贸公司提供);标准对照品穿心莲内酯和脱水穿心莲内脂(购自中国药品生物制品检定所);甲醇、乙醇、无水乙醇均为分析纯级。

2 方法与结果

2.1 冷浸一超声波振荡提取法

2.1.1 材料 穿心莲粗粉,每次用量 10g,同时取样测定含水量,以便计算实际得率。

2.1.2 方法 用四因素三水平正交试验设计,进行 9 次试验。

表 1 试验条件表

A	超声处理时间 (min)	B 乙醇浓度 (%)	C 乙醇用量 (倍)	D 稳定剂量 (%)
1	30	60	4	0
2	45	80	6	0.5
3	60	95	8	1.0

提取时固定不变的条件:超声波功率;溶剂浸泡时间 2h。

表 2 9 次试验条件数据表

A	超声处理时间 (min)	B 乙醇浓度 (%)	C 乙醇用量 (mL)	D 稳定剂量 (%)
1	30	60	40	0
2	30	80	60	0.5

A	超声处理时间 (min)	B 乙醇浓度 (%)	C 乙醇用量 (mL)	D 稳定剂量 (%)
3	30	95	80	1.0
4	45	60	60	1.0
5	45	80	80	0
6	45	95	40	0.5
7	60	60	80	0.5
8	60	85	40	1.0
9	60	95	60	0

2.1.3 含量测定结果

以穿心莲内酯为标准对照品,用高效液相色谱法测定,各编号样品中穿心莲内酯的含量如下:

表 2 含量测定结果

编号	含量 (%)
1	1.571
2	1.410
3	1.498
4	1.508
5	1.627
6	1.432
7	1.488
8	1.490
9	1

上述测定其内酯的平均含量为 1.503%。

2.2 乙醇加热回流提取法

2.2.1 方法:样品粗粉 10g,加 5 倍量 85% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 2h,过滤,合并滤液,回收乙醇得浓缩提取物,定容,作为供试液测定含量。

2.2.2 含量测定:HPLC 法:C₁₈柱;乙腈:水(35:65);检测波长 225nm;流速 1mL/min;柱温:室温。

2.2.3 结果:穿心莲内酯为标准,用本法提取的样品中穿心莲内酯含量为 1.052%(g/g)。

2.3 浸泡一超声波处理法

2.3.1 方法:样品粗粉 10g,加 10 倍量乙醇,混匀,于室温下浸泡 30min,超声处理 30min,过滤,残渣用适量乙醇洗涤二次,滤过,合并:滤液,回收乙醇得浓缩提取物,定容,作为供试液测定含量。

2.3.2 含量测定:HPLC 法:C₁₈柱;乙腈:水(35:65);检测波长 225nm;流速 1mL/min;柱温:室温。

2.3.3 结果:穿心莲内酯为标准,用本法提取的样品中穿心莲内酯含量为 1.426%(g/g)。

2.4 冷浸提取法

2.4.1 方法:样品粗粉 10g,加 8 倍量乙醇,混匀,于室温下浸泡 24h。其中,白天上班时间内每隔 2h 振摇 1 次,共 5 次。过滤,合并滤液,回收乙醇得浓缩提取物,定容,作为供试液测定含量。

2.4.2 含量测定:HPLC 法; C_{18} 柱;乙腈:水(35:65);检测波长 225nm;流速 1mL/min;柱温:室温。

2.4.3 结果:穿心莲内酯为标准,用本法提取的样品中穿心莲内酯含量为 1.322%(g/g)。

本项研究工作对穿心莲中内酯提取方法进行了四种方法的比较。结果如下:冷浸—超声波振荡提取法:穿心莲内酯含量 1.503%;乙醇冷浸法:1.322%;浸泡—超声波处理法:1.426%;乙醇加热回流提取法:1.025。

从上述结果分析,冷浸—超声波振荡提取法有效成分穿心莲内酯得率为最高;浸泡—超声波处理法得率也较高;乙醇冷浸法比前两种方法稍低,但比乙醇加热回流提取法的得率明显要高。

3 讨论

3.1 从四种提取方法的工艺过程分析,乙醇冷浸法最为简单,得率也较高,但是提取耗时较长,溶剂用量较多;冷浸—超声波振荡提取法耗时少,得率最高,工艺也较为简单,但需添置超声波提取专用设备;乙醇加热回流提取法费时耗能,成分受热易被破坏而得率较低。

3.2 对冷浸—超声波振荡提取法的分析

3.2.1 关于因素的选择:实际工作经验中我们认识到,超声波处理时间、乙醇浓度和用量这三个因素对药材中成分的提取效率十分重要,第四个因素稳定剂加入量是考虑到药材中所要提取的内酯类成分的不稳定性(易被氧化、易受热而分解、易开环而变性等)而设计的预防措施,分不加、加入 0.5% 和 1.0% 三个水平进行初步摸索。实验结果显示:其他条件相同情况下,加稳定剂比不加的得率要高。这方面的工作有待进一步深入研究。

3.2.2 从正交试验的结果可初步判断:超声波处理时间 30min ~ 60min,浓度在 80 ~ 90%,乙醇用量为药材干重的 6 ~ 8 倍,稳定剂在提取溶剂中的加入量约 0.5%,为最佳提取条件。

3.3 根据本次实验研究结果,提出以下建议供参考

3.3.1 穿心莲药材中内酯类成分的提取方法,用常温提取比加热提取要好;加稳定剂比不加稳定剂要好;用超声波振荡提取比自然溶剂提取要好。

3.3.2 可以考虑采用超声波振荡设备,以促进溶剂在药材中的渗透和交换,提高单位溶剂的提取效率,相应缩短提取时间,提高总的生产能力和效率。但是,大生产用超声波设备的投资,应充分考虑其成本和回报率。

3.3.3 乙醇冷浸提取法也是可以考虑采用的简单方法。该方法虽然得率比超声波法稍低,但显然没有任何风险。

收稿日期:2004-07-18