· 专 栏 ·

· 中药与天然药 ·

唐古特红景天提取工艺研究

贺美艳¹, 张小龙^{2*} (1.三金集团湖南三金制药有限责任公司, 湖南 常德 415001; 2.中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

摘要: 目的 确定唐古特红景天药材的最佳提取工艺。方法 采用超声、回流、冷浸法, 采用 L₉(3⁴)正交试验法, 考察提取温度、乙醇浓度、溶剂量、提取时间 4 因素对红景天苷、酪醇含量和提取率的影响。结果 回流提取为最佳提取方法, 最佳提取工艺条件为: 8 倍量 50%乙醇 80 ℃提取 2 次, 每次提取 1.0 h。结论 该研究结果为有效利用唐古特红景天资源及其工业生产提供了依据。

关键词: 唐古特红景天; 红景天苷; 酪醇; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)06-0495-03

Study on the Optimized Extraction Technology of *Rhodiola Algida*

HE Meiyang¹, ZHANG Xiaolong^{2*} (1.Sanjin Group Hunan Sanjin Pharmaceutical Co. Ltd., Changde 415001, China; 2.Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction technology of *Rhodiola algida*. **METHODS** *Rhodiola algida* was extracted by ultrasonic, refluxing and cold soaking extraction, respectively. The extraction rate, content of salidroside and p-tyrosol were chosen as the assessment index by using the orthogonal design. The effects of ethanol content, solvent volume, extracting time (hour) and extraction temperature were investigated. **RESULTS** The results indicated that the refluxing extraction was the best method. The optimized extraction process conditions were as follows: adding 8 fold of 50% ethanol, extracting for 1.0 h and 2 times at 80 ℃. **CONCLUSION** This study will provide a reference to the research of *Rhodiola algida* and industrial production.

KEY WORDS: *Rhodiola algida*; salidroside; p-tyrosol; orthogonal test

唐古特红景天 *Rhodiola algida*(Ledeb.), 为蔷薇目景天科(*Crassulaceae*)红景天属多年生草本植物或亚灌木植物^[1]。红景天在我国已经有悠久的药用历史。《本草纲目》誉之为“八宝草”、“火焰草”、“经中上品”, 有“扶正固本、醒脑明目、轻身益气、久服通神不老”之功效。药用红景天藏名“扫罗玛布”, 被誉为“高原人参”, 系藏族习用药材, 具有良好的抗疲劳、抗辐射作用, 其免疫补益作用强于人参、刺五加, 且无人参燥热不宜久服, 又无刺五加易引起便秘的缺点^[2-3]。唐古特红景天的干燥根及根茎, 首次列入是 1977 年版中国药典药品标准。

目前研究人员已经从不同种类的红景天中分离得到 40 余种化学成分, 包括苷类、黄酮类、氨

基酸类、酚类、香豆素类、挥发油类、酶类、矿物质、微量元素等, 其中最重要的活性成分是红景天苷(salidroside)、红景天苷元即酪醇(P-tyrosol)都是经过药理研究证明有特殊生理功能的有效成分^[4-5]。通过文献调研发现, 唐古特红景天的提取工艺研究甚少, 笔者首次针对该药材中主要的活性成分红景天苷、酪醇以及浸膏得率进行提取工艺的研究, 得出切实可行的工艺方案, 为唐古特红景天的高效利用和工业化生产提供科学、合理的依据。

1 材料与仪器

1.1 仪器

LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-M10AVP 型二极管阵列检测器, CLASS-10A

基金项目: “十一五” 国家科技重大专项(2009ZX09501-015)

作者简介: 贺美艳, 女, 工程师 Tel: 13077219005 E-mail: hemeiyang1111@163.com *通信作者: 张小龙, 男, 博士, 助理研究员 Tel: 15881031836 E-mail: zh.x.long@163.com

色谱工作站; AT-130 柱温箱(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); HH 数显恒温水浴箱(金坛市金城国胜实验仪器厂); SK3300H 超声波清洗仪(上海科岛超声仪器有限公司) Milli-Q 超纯水装置; AB104-N 电子天平(Mettler-toledo 公司); RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), DC-NSG100 型多功能提取罐(上海达程实验设备有限公司)。

1.2 试剂

红景天苷、酪醇对照品, 纯度均 $\geq 98\%$ (中国药品生物制品检定所, 批号分别为 0818-200103、1077-200303); 色谱级乙腈、甲醇(中国上海陆忠试剂厂); 分析级甲醇(天津天茂化学试剂厂); 分析级乙腈(天津市科密欧化学试剂有限公司); 食用乙醇(常德市鼎城天马化工有限公司); 水为重蒸水并经 0.45 μm 滤膜过滤。

1.3 药材

唐古特红景天药材购于青海省九康饮片有限公司(产地青海乌兰县, 批号 20101023), 并由湖南三金制药有限公司杨业建高级工程师鉴定为唐古特红景天 *Rhodiola algida* (Ledeb.) 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 测定方法

2.1.1 酪醇、红景天苷含量测定 按照文献[6-7], 精密称量提取浸膏 500 mg, 溶于 50 mL 量瓶中, 甲醇定容后用移液管量取 5 mL, 转移至另一 50 mL 量瓶中, 甲醇定容, 即得待测样品。色谱条件: 色谱柱为 Kromasil C_{18} (250 mm $\times$ 4.60 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.06%磷酸水溶液(10:10:80), 流速: 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$, 检测波长为 275 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 等度洗脱, 进样量: 20 μL 。

2.1.2 提取率测定 精密吸取样品液 100 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 于 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 5 h, 置干燥器中冷却 1 h, 迅速称重。按下式计算浸膏得率(W 为浸膏质量, M 为样品液质量), 浸膏得率($\%$)= $W/M \times 100\%$ 。

2.2 正交试验

2.2.1 预实验 提取方法考察, 取适量干燥唐古特红景天根, 粉碎, 过 50 目筛, 选择 50%乙醇为提取溶媒, 提取 3 次, 每次 10 倍量溶剂, 重复 3 次, 用“2.1.1”和“2.1.2”的方法制备供试品溶液并检测分析, 比较超声法(110 kHz, 30 $^{\circ}\text{C}$, 0.5 h $\cdot$ 次 $^{-1}$); 冷浸法(浸泡 7 d $\cdot$ 次 $^{-1}$); 回流法(1.5 h $\cdot$ 次 $^{-1}$) 的提取效果, 结果见表 1, 综合对比分析 3 种不同

提取方法, 回流提取率最高, 活性成分含量均较高, 从工业化大生产角度分析, 选择回流作为最佳提取方法。再以提取温度、乙醇浓度、溶剂量、提取时间作为影响红景天主要有效成分提取率的因素进行单因素试验。

表 1 提取方法选择试验结果

Tab 1 The results of different extraction methods

提取方法	投料量/ g	提取量/ g	提取率/ %	酪醇含量/ %	红景天苷 含量/%
超声法	100	23.8	23.8	0.51	2.90
冷浸法	100	17.1	17.1	0.39	3.87
回流法	100	34.9	34.9	0.43	3.53

2.2.2 正交试验 以单因素试验的结果为参考, 采用 100 g 投料量进行实验, 对提取温度(A)、乙醇浓度(B)、溶剂量(C)、提取时间(D)进行 4 因素 3 水平正交试验, 见表 2。以红景天苷、酪醇含量、浸膏得率为考察指标, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验确定最佳提取条件。称取红景天粉末 100 g, 用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验, 见表 3, 合并提取液浓缩, 对浓缩液进行测定, 计算浸膏得率、红景天苷和酪醇含量。分别定义浸膏得率、红景天苷含量、酪醇含量的权重系数为 0.3, 0.5, 0.2, 按照如下方式计算综合评分^[8], 加权综合评分进行方差分析, 结果见表 2、表 3。

表 2 正交试验因素水平表

Tab 2 Factors and levels of orthogonal experiments

水平	(A)温度/ $^{\circ}\text{C}$	(B)乙醇浓度	(C)溶剂量	(D)提取时间/h
1	40	25%	4 倍	1.0
2	60	50%	6 倍	1.5
3	80	75%	8 倍	2.0

综合评分=浸膏得率评分+红景天苷含量评分+酪醇含量评分; 其中, 浸膏得率评分=权重系数(30) $\times$ 浸膏得率/最大浸膏得率; 红景天苷评分=权重系数(50) $\times$ 红景天苷含量/最大红景天苷含量; 酪醇评分=权重系数(20) $\times$ 酪醇含量/最大酪醇含量。

2.3 试验结果分析

由表 3 和表 4 综合分析结果可知, 各因素的影响次序为 $A > C > B > D$, 即提取温度 $>$ 溶剂量 $>$ 乙醇浓度 $>$ 提取时间, 最佳条件为 $A_3C_2B_3D_3$, 即提取温度 80 $^{\circ}\text{C}$, 溶剂量 8 倍量, 乙醇浓度 50%, 提取时间为 2 h。因为提取时间对总皂苷含量无显著影响, 为了降低成本, 可取提取时间为 1.0 h, 即最终选取的最优工艺条件为 $A_3C_2B_3D_1$ 。综合正交实验分

表 3 红景天正交试验表

Tab 3 $L_9(3^4)$ arrangement and the results of orthogonal test

实验	A	B	C	D	红景天苷 含量/%	酪醇/ %	提取率/ %	综合 评分
1	1	1	1	1	0.85	0.19	17.40	33.71
2	1	2	2	2	1.82	0.21	25.01	53.66
3	1	3	3	3	3.09	0.25	26.52	73.50
4	2	1	2	3	2.35	0.25	29.10	65.78
5	2	2	3	1	3.44	0.46	28.51	88.92
6	2	3	1	2	2.39	0.32	27.90	68.38
7	3	1	3	2	3.76	0.30	36.32	92.56
8	3	2	1	3	3.54	0.42	36.91	95.34
9	3	3	2	1	3.31	0.41	34.7	90.05
K1	160.87	192.05	197.43	212.68				
K2	223.08	237.92	209.49	214.60				
K3	277.95	231.93	254.98	234.62				
R	117.08	45.87	57.55	19.94			CT2/9=48 679.07	

表 4 方差分析表

Tab 4 The orthogonal experiments analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	显著性
提取温度 A	2 287.614	2	26.80	<0.05
乙醇浓度 B	714.483	2	8.371	>0.05
溶剂量 C	1 114.087	2	1.305	>0.05
提取时间 D	498.428	2	5.843	>0.05

注: $F_{0.05(2,2)}=19$

Note: $F_{0.05(2,2)}=19$

析结果表明, 溶剂以乙醇浓度 50%, 原料药材提取时间为 1.0 h, 溶剂加入量为 8 倍量, 提取温度为 80 °C 提取条件为最佳的提取工艺条件。

经正交试验方法选择红景天提取工艺条件, 进行 3 批中试生产, 结果见表 5。结果表明, 该提取工艺稳定, 操作简单、安全, 且生产周期短, 成本低, 能满足大规模生产的需要。

表 5 3 批中试放大试验结果

Tab 5 Results of pilot plant test

编号	投料量/ kg	提取量/ kg	提取率/ %	酪醇含量/ %	红景天苷 含量/%
1	10	3.51	35.1	0.42	3.48
2	10	3.68	36.8	0.41	3.55
3	10	3.57	35.7	0.42	3.64

3 讨论

红景天药材的利用和开发, 已有悠久的历史, 唐古特红景天作为红景天药材的一个重要品种, 已有广泛的应用, 但其提取工艺研究甚少。本试验以指导大生产为目的, 选用唐古特红景天主要有效成分红景天苷、酪醇和提取率为指标, 较为全面地筛选了唐古特红景天的最佳提取工艺, 为高效、合理的开发利用红景天资源提供可靠的参

考依据, 为工业化大生产提供理论基础。红景天苷和酪醇均为红景天中抗缺氧、抗疲劳、抗氧化的主要活性成分, 在不同品种, 不同产地中其含量差异较大^[9], 工业化大生产中为确保产品的有效性和稳定性, 一定要确保原料药材的品质, 建议在生产过程中固定原料药材的产地和采集时间。

REFERENCES

- [1] Ditorial Committee of Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Flora Reipublicae Popularis Sinicae(中国植物志) [M]. Vol 34. Beijing: Science Press, 1984: 159.
- [2] LUO C H, SHU R, GAO Y. Experimental study on the antiradiation and antifatigue effects of *Rhodiola crenulata* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 1996, 13(4): 5-7.
- [3] Jiangsu New Medical College. Dictionary of Chinese Materia Medica(中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1997: 1009.
- [4] DENG C G, DU N S, SUN T S. Reseach and development of *Rhodiola* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 1994, 11(4): 47-49.
- [5] WANG Y F, QING L G, NI Z C. Value of comprehensive utilization of *Rhodiola* species [J]. Sci Technol Tibet(西藏科技), 1991, 16(4): 36-39, 41.
- [6] AN W J, CHEN G, WANG W T, et al. HPLC determination of salidroside in *Rhodiola* species produced in different regions [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 38(7): 1096-1097.
- [7] YANG T Y, LI S M, LIU H Z, et al. Study on the extraction and purification process of Hongjingtian injection [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2007, 18(9): 2227-2228.
- [8] LI C, CHEN D S, CHEN J, et al. Study on the extraction process for salidroside and P-tyrosol in *Rhodiola crenulata* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2006, 29(11): 1239-1241.
- [9] CHEN Z Y, CHEN Y T, WANG D H. Comparison of salidroside in different *Rhodiola* by HPLC [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 31(11): 939-941.

收稿日期: 2011-07-21