

川黄柏中盐酸小檗碱的超声提取工艺研究

★ 施群¹ 施淑琴² (1. 浙江省金华中心医院 金华 321000; 2. 浙江省金华职业技术学院医学院 金华 321007)

摘要:目的:优选川黄柏中盐酸小檗碱的超声提取最佳工艺。方法:采用超声提取法,以盐酸小檗碱含量作为考察指标,以饱和石灰水为溶媒,通过正交试验设计考察超声频率、溶媒倍数、提取次数、提取时间等因素对盐酸小檗碱提出率的影响。结果:川黄柏中盐酸小檗碱最佳超声提取工艺为: $A_3B_3C_1D_1$,即加药材 30 倍量的饱和石灰水,60 kHz 超声提取 3 次,20 min/次,其提取率最高。结论:超声波提取工艺简单,提取率高,可用于工业化大生产。

关键词:川黄柏;盐酸小檗碱;超声波提取

中图分类号:R 284.2 **文献标识码:**B

黄柏为芸香植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 或黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的干燥树皮。前者习称“川黄柏”,后者习称“关黄柏”,为临床常用中药之一,具有清热燥湿、泻火解毒、退虚热之功效^[1]。其主要成分为盐酸小檗碱,本实验采用紫外分光光度法(UV 法)测定盐酸小檗碱含量为指标,以石灰水作为提取溶媒,通过正交试验设计考察超声频率、溶媒倍数、提取次数、提取时间等因素对盐酸小檗碱提出率的影响,优选川黄柏中盐酸小檗碱的超声提取工艺。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器 FA1004N(上海民桥精密仪器有限公司),CQ-20-36 型超声波清洗器(上海市弘兴超声电子仪器有限公司制造),UV-240 紫外分光光度计(日本岛津)。

1.2 试剂和药材 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0753-200011);川黄柏(华东医药公司,产地为四川,经浙江省金华职业技术学院

施淑琴讲师鉴定为 *Phellodendron chinense* Schneid., 且符合中国 2000 年药典版黄柏项下规定),实验前将川黄柏皮加工成最粗粉,60 ℃ 烘 24 h,置干燥器备用。所用试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 盐酸小檗碱的含量测定

2.1.1 标准品液和供试液的制备 取置五氧化二磷真空干燥器干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 5.0 mg,加水定容于 100 ml 容量瓶中,摇匀,即得浓度为 50 μg/ml 的盐酸小檗碱标准品储备液,备用。

精密称取川黄柏药材粉末 5.0 g 9 份,装入具塞三角烧瓶中,超声提取,合并滤液,浓缩,置 100 ml 容量瓶,加水定容。量取所得样品液 1 ml 置 100 ml 容量瓶中,加水定容,摇匀,即得供试液。

2.1.2 标准曲线的制作^[1] 精密吸取盐酸小檗碱储备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 于 25 ml 容量瓶中,用蒸馏水作空白,在 345 nm 波长处分别测得吸光度。用最小二乘法经线性回归,得盐酸小檗碱

面地反映药材的质量。

野生品种木脂素含量均高于栽培品种,在种植过程中可查考一些自然生态因素。在栽培品种中 4 号样品醇甲含量最高,且 3 种木脂素类总含量高于其他栽培品种,3 号样品甲素含量最高,6 号样品乙素含量最高。从药材外观性状来看,辽宁凤城栽培的五味子个大、饱满、色润有油性,而千山野生五味子大小不一,无光泽,品相较差。不同产地的五味子由于地理环境的差异,对五味子有效物质的产生和积累会产生一定的影响。但这种差异的表现是否明

显,还需要多种因素综合分析,不能仅凭一种指标来衡量,因为影响道地性和品质的因素还是有很多。

综上所述,野生品种的质量优异,不同产地的北五味子种子中木脂素类含量有一定的差异。因此需建立统一的药材质量标准。

参考文献

- [1]李毓群. 反相 HPLC 测定五味丸中五味子醇甲的含量[J]. 中国中药杂志,2006,31(11):938-939.
- [2]李晓光,高勤,翁文,等. 五味子有效部位及其药理作用研究进展[J]. 中药材,2005,28(2):156-159.

(收稿日期:2008-09-25 责任编辑:蒋力生)

浓度 C 与吸光度 A 的回归方程: $C = 0.0679A - 0.0014$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 盐酸小檗碱在 $1.0 \sim 10.0 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内线性关系良好。

2.1.3 精密度试验 分别精密吸取供试液 1.0 ml , 平行操作测定 5 次吸光度, 结果 RSD 为 1.72% 。

2.1.4 稳定性试验 取供试液室温放置 0、1、2、4、8、12、16、20、24 h 后分别测定吸光度, RSD 为 1.29% , 说明供试液在 24 h 内基本保持不变。

2.1.5 加样回收试验 取已知盐酸小檗碱含量的川黄柏粗粉样品 6 份, 分别精密添加已知浓度的盐酸小檗碱对照品适量。按“2.1.1”项制备 6 份供试液, 按“2.1.2”项操作, 测定盐酸小檗碱含量, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.35% , RSD 为 1.65% 。

2.2 因素水平设计

采用 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验, 以石灰水作为提取溶媒, 以盐酸小檗碱的含量为考察指标, 考察超声频率、溶媒倍数、提取次数、提取时间等因素对盐酸小檗碱提出率的影响, 因素水平安排见表 1 所示, 正交试验结果及方差分析见表 2、3。

表 1 因素水平表

水平	超声频率 A/kHz	溶媒倍数 B/倍	提取时间 C/min	提取次数 D/次
1	20	10	20	3
2	40	20	30	4
3	60	30	40	5

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验安排及结果表

试验号	A	B	C	D	含量/%
1	1	1	1	1	3.511
2	1	2	2	2	3.580
3	1	3	3	3	3.620
4	2	1	2	3	4.250
5	2	2	3	1	4.350
6	2	3	1	2	4.398
7	3	1	3	2	4.253
8	3	2	1	3	4.421
9	3	3	2	1	4.428
K_1	3.570	4.005	4.110	4.096	
K_2	4.333	4.117	4.086	4.077	
K_3	4.367	4.149	4.074	4.097	
R	0.797	0.144	0.036	0.020	

表 3 方差分析结果表

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P
A	1.218	2	0.609	1218.000	<0.01
B	0.034	2	0.017	34.000	<0.05
C	0.002	2	0.001	2.000	
D	0.001	2	0.0005	1.000	

$$F_{0.01}(2,2) = 99, F_{0.05}(2,2) = 19$$

由表 2、3 试验结果可知, 各因素对川黄柏盐酸小檗碱提取率的影响的大小顺序为 $A > B > C > D$, 最佳工艺条件为 $A_3B_3C_1D_1$ 。方差分析结果表明, 因素 A、B 对川黄柏盐酸小檗碱的提取率有显著性影响, 而因素 C、D 各水平间无显著性差异。从生产实际和节约能源的角度, 拟确定川黄柏盐酸小檗碱的提取工艺为 $A_3B_3C_1D_1$, 即加药材 30 倍量的饱和石灰水, 60 kHz 超声波提取 3 次, 每次 20 min。

2.3 验证试验 取川黄柏粗粉样品 6 份, 按优选的提取工艺 $A_3B_3C_1D_1$ 提取并测定得川黄柏盐酸小檗碱的含量为 4.621% , $RSD = 1.86\%$, 高于正交表中盐酸小檗碱的含量, 说明该提取工艺稳定, 重复性好。

3 讨论

(1) 从黄柏中提取盐酸小檗碱的传统方法有酸水法、石灰乳法和醇提法等。黄柏含有大量的粘液质, 不能用酸水提取。本文采用饱和石灰乳可促使粘液质沉淀, 排除粘液质干扰。本方法简便可靠, 成本低, 适用于工业化生产。

(2) 超声波的强烈振动, 有利于溶剂渗透到药材粉末之中, 加速生物碱成分的溶出和扩散。超声提取可提高黄柏中盐酸小檗碱的提出率, 缩短提取时间。但它对容器要求高, 可能破坏有效成分等缺点。要用于大规格工业化生产, 还有待于进一步解决有关工程设备的放大问题。

(3) 关于盐酸小檗碱的含量测定, 实验中曾取供试品和对照品溶液在 $300 \sim 500 \text{ nm}$ 波长范围内进行扫描, 结果两者均在 345 nm 波长处有最大吸收, 且吸收光谱一致。参考有关文献^[1,2], 经 HPLC 法分析, 供试品溶液同对照品溶液主峰保留时间一致, 说明供试品溶液除溶剂峰外无其他杂质峰, 成分较为单一, 用 UV 法测定盐酸小檗碱的含量可作为考察其提取工艺的指标。且 UV 法所用仪器较普遍, 操作简单, 灵敏度高, 方法稳定, 适用于基层部门的研究。

参考文献

- [1] 桑媛, 张冬梅. 黄柏胶囊中盐酸小檗碱含量的分光光度分析[J]. 中国药业, 2006, 15(5): 50.
- [2] 杨骏, 刘翠兰, 李洁. 黄柏胶囊制备工艺及质量控制研究[J]. 中成药, 2007, 29(10): 1524-1526.

(收稿日期: 2008-09-02 责任编辑: 曹征)