

正交设计优选超声提取 蜘蛛香中缬草素的提取工艺*

□陈玉娟 石晋丽** 闫兴丽 刘 勇 肖培根**

(北京中医药大学中药学院 北京 100102)

摘 要:目的:研究超声波提取蜘蛛香中缬草素的最佳工艺。方法:采用 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验法,以缬草素的得率为考察指标,对超声波提取蜘蛛香中缬草素的工艺进行优化。在优选出的超声波最佳提取工艺条件下,将该法与渗漉法进行比较。结果:优选的超声波提取蜘蛛香中缬草素的最佳工艺条件为:药材粉碎,过 40 目筛,浸泡 30min 后,用相当于药材 8 倍重量的 95%乙醇提取 3 次,每次提取 40min。结论:超声波提取法可用于蜘蛛香中缬草素的提取。

关键词:蜘蛛香 缬草素 超声波提取 HPLC

蜘蛛香 [*Valeriana Wallichii* DC (V. Jatamansi Jones)]又名马蹄香、老虎七、印度缬草等,系败酱科缬草属植物,曾收载于《中国药典》(1977 年版),具有镇静安神、理气止痛、消炎止泻、祛风除湿等功效。其中缬草素为蜘蛛香镇静安神、抗抑郁的物质基础之一。目前,缬草素的提取方法主要有冷浸法、渗漉法、二氯甲烷索氏提取法等,它们均存在溶媒用量大、提取时间长、毒性高等缺点,因此,有必要寻找一种高效、快速的提取方法。与以上常规方法相比,超声波提取方法具有操作简单、提取时间短、消耗溶剂低、得率高等优点。本试验采用小型超声波提取设备研究了超声提取蜘蛛香中缬草素的最佳提取工艺。

一、材 料

1. 仪器与试剂

Agilent1100 型高效液相色谱仪 (Agilent Technologies);LB801 型超级恒温器 (辽阳市恒温仪器厂);KQ5200E 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司);Sartorius-BS110S 型电子分析天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司)。乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);纯净水(屈臣氏,经 $0.45\mu\text{m}$ 水系滤膜滤过);甲醇、无水乙醇、氯仿(分析纯,北京化工厂);缬草素对照品自制。

2. 药 材

药材购自云南师宗县,经北京中医药大学石晋丽副教授鉴定为败酱科缬草属植物蜘蛛香[*Valeriana jatamansi* Jones (*Valeriana wallichii* DC)]的干燥根茎

收稿日期:2009-03-12

修回日期:2009-08-27

* 国家自然科学基金项目(30572463):茵陈蜘蛛香治疗肠激综合征(IRS)的物质基础及作用机理研究,负责人:闫兴丽。

** 联系人:石晋丽,副教授,硕士生导师,主要研究方向:药用植物、植物分类学, Tel: 010-84738623, E-mail: shijl@vip.sina.com; 肖培根,本刊编委会副主任委员,中国工程院院士,主要研究方向:药用植物亲缘学、中药及保健食品的研究与开发。

及根。

二、方法和结果

1. 方法学考察

(1) 色谱条件。

色谱柱: Luna C₁₈ (250mm×4.6mm, 5μm) 柱(美国 Phenomenex 公司); 流动相为乙腈-水 (68:32), 流速为 0.95mL·min⁻¹, 检测波长为 254nm, 柱温为 35℃。在此色谱条件下, 缬草素的保留时间为 15.7min, 吸收峰对称性好且无拖尾现象。

(2) 标准曲线的制备。

精密称取缬草素 2.0mg, 置 5mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 0.40mg·mL⁻¹ 的溶液。依次精密吸取对照品溶液, 分别以 0.1μL、10μL、20μL、30μL、40μL、50μL、60μL 体积进样, 按上述色谱条件测定, 以进样体积为横坐标(X), 以峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归, 得回归方程为 $Y=747.54X-197.35$, $r=0.9998$, 表明缬草素在 0.04~24.00μg 范围内线性关系良好。

(3) 精密度实验。

按上述色谱条件, 取上述缬草素溶液连续进样 5 次, 记录峰面积积分值, 计算出峰面积 RSD 值为 2.37% (n=5)。

(4) 重复性试验。

取 5 份 2.1mg·mL⁻¹ 的缬草素溶液, 分别进样, 测得峰面积积分值, 计算 RSD 值为 1.36% (n=5), 结果表明本方法重现性较好。

(5) 加样回收率试验。

精密称取已知含量的缬草素 5 份, 分别精密加入缬草素对照品, 用甲醇溶解, 按上述色谱条件测定, 测得峰面积积分值, 计算回收率, 平均回收率为 100.1%, RSD 值为 0.98% (n=5), 表明本方法具有良好的回收率。

2. 正交试验优化最佳提取条件

(1) 因素水平的确定。

选择影响超声波提取蜘蛛香过程的主要因素有提取时间、药材粒径、溶媒用量和提取次数, 并确定 3 个不同的水平, 以缬草素得率为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交试验方案, 因素水平见表 1。

(2) 正交试验结果。

取蜘蛛香药材 18 份, 每份 1.5g, 置于锥形瓶中, 浸泡 30min, 按表 2 中的正交试验方案进行超声波提

取, 分别将试验所得超声波提取液过滤, 上清液置于 50mL 容量瓶中并定容, 高效液相色谱法测定每克生药中提取的缬草素量, 正交试验方案及结果见表 2。采用 SAS 统计软件进行分析, 得表 3。

由表 2 可知, 各因素对实验结果的影响为 B>C>A>D, 由表 3 可以看出 A、B、C、D 均有显著性差异。因此, 缬草素的最佳提取工艺为 A₂B₂C₂D₂, 即药材粉

表 1 因素水平表

水平	因 素			
	A 提取时间 (min)	B 粒径 (目)	C 溶媒用量 (倍)	D 提取次数 (次)
1	20	20	6	1
2	40	40	8	2
3	60	80	10	3

表 2 正交实验方案和结果

编号	A 提取时间	B 粒径	C 溶媒用量	D 提取次数	缬草素得率 (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	13.83
2	1	2	2	2	17.25
3	1	3	3	3	16.33
4	2	1	2	3	17.68
5	2	2	3	1	17.59
6	2	3	1	2	16.35
7	3	1	3	3	17.53
8	3	2	1	1	17.34
9	3	3	2	2	17.19
10	1	1	1	1	13.21
11	1	2	2	2	17.43
12	1	3	3	3	16.15
13	2	1	2	3	16.76
14	2	2	3	1	17.37
15	2	3	1	2	15.55
16	3	1	3	2	16.32
17	3	2	1	3	16.96
18	3	3	2	1	15.39
K1	15.70	15.89	15.54	15.76	
K2	16.88	17.32	16.95	16.74	
K3	16.79	16.16	16.88	16.87	
R					

备注: R=Kmax-Kmin。

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P	显著性
A	5.19	2	2.59	6.83	P<0.05	*
B	6.79	2	3.49	9.18	P<0.01	*
C	7.59	2	3.79	9.99	P<0.01	*
D	4.39	2	2.19	5.78	P<0.05	*

*: 代表有显著性差异。

碎,过 40 目筛,浸泡 30min,相当于药材 8 倍重量的 95%乙醇提取 3 次,每次提取 40min。

按优化的提取工艺(A₂B₂C₂D₃)制备 3 批样品,采用高效液相色谱法测得缬草素的平均提取率为 17.95mg·g⁻¹,表明该法提取缬草素比较稳定。

狄宏晔^[2]对渗漉法提取缬草素进行了考察,本实验按照其最佳提取工艺,取蜘蛛香药材 3 份,每份 1.5g,95%乙醇浸泡 30min,相当于药材 10 倍量的 95%乙醇渗漉 3 次,采用高效液相色谱法测得缬草素的平均得率为 17.48mg·g⁻¹。超声提取法与渗漉提取法相比,提取效果略好,可用于蜘蛛香中缬草素的提取。

三、讨 论

缬草素为环烯醚萜类成分,易氧化、水解、热降解,对光不稳定,因此,制备过程中制备时间越长缬

草素降解越多,而超声提取法具有快速、高效等特点,这是本实验的提取依据。

超声波提取主要是利用超声波产生的强烈震动和空化效应加速植物细胞内物质的释放、扩散并溶入溶剂中,同时可保持被提取物质的结构和生物活性不发生变化^[3]。目前,超声提取法已广泛应用于多糖、苷类、生物碱类、黄酮类等化合物的提取,并已显现出明显的优势。

参考文献

- 1 中国药典.一部,北京:化学工业出版社,1997:633.
- 2 狄宏晔,石晋丽,闫兴丽,等.蜘蛛香中总缬草素的提取纯化工艺研究.中药材,2007,30(9):1125.
- 3 邱天尧,王秀芬,姚中华.超声提取技术在中草药成分提取中的应用.黑龙江医药,2007,20(5):455.

The Orthogonal Test for Optimization of the Valtrate Extracting Procedure from *Valeriana Wallichii* DC

Chen Yujuan, Shi Jinli, Yan Xingli, Liu Yong, Xiao Peigen

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: This work aimed to optimize the extracting process of valtrate from *Valeriana wallichii* DC (*V. jatamansi* Jones) by supersonic wave. The orthogonal experiment L₉(3⁴) was adopted, and the gaining rate of valtrate was used as the evaluating criterion. The optimal conditions were as follows: the plant material was powdered, passed through a 40 mesh sieve, soaked for 30min, and extracted for 3 times with 8-fold weight 95% ethanol for 40min each time. The results showed that supersonic wave is suitable for the extraction of valtrate from *V. wallichii*.

Keywords: *Valeriana wallichii* DC (*V. jatamansi* Jones); Valtrate; Supersonic wave extraction; HPLC

(责任编辑:李沙沙,责任译审:张立崴)