

# 冬凌草不同提取工艺的研究<sup>△</sup>

河南中医学院(郑州 450003) 袁珂\* 胡润淮 张庆岭\*\* 敬林林 曹振玉\*\*

**摘要** 对冬凌草不同提取工艺进行了研究,并以冬凌草甲素为指标分别对其进行了含量测定。

结果表明,破碎提取法较其它提取法提取的冬凌草甲素含量为最高。

**关键词** 冬凌草 提取工艺 冬凌草甲素 含量测定 破碎提取

冬凌草为唇形科香茶菜属植物 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara, 又名冰凌草。冬凌草的主要有效成分为萜类化合物,经药理实验<sup>[1~4]</sup>表明,从冬凌草的二萜类成分中分得的冬凌草甲素具有较强的抗肿瘤活性,它对体外培养的 HeLa 细胞、人体食管癌 109 细胞及肝癌 BEL-7402 细胞有明显的细胞毒作用。对多种移植性动物肿瘤如 ECA、S<sub>180</sub> P<sub>388</sub>、L<sub>1210</sub> 肝癌及 ARS 有明显抗肿瘤作用。临床上多用于肝癌、食管癌及胰腺癌的治疗,并取得了一定疗效。对此作者对冬凌草不同提取工艺的提取物得量、收率及提取物中冬凌草甲素的含量进行了测定比较,以确定出最佳提取工艺,为工业化生产提供依据。

## 1 仪器与试剂

原料冬凌草于 1995-09 采自河南省济源太行山区,冬凌草甲素对照品由中国科学院昆明植物研究所提供。破碎提取采用自制中草药破碎提取器(已获国家实用新型专利)。

含量测定:CS-9301 双波长薄层扫描仪(日本岛津),三用紫外线分析仪(江苏省江阴市申港电光仪器厂生产),点样定量毛细管(Drummond Scientific CO. USA),PBQI 型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂生产),所用试剂均为分析纯。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 不同提取工艺所得提取物量及收率的

比较

2.1.1 回流提取:称取原料 50 g,适当切碎,用 10 倍量 95%EtOH 回流提取 3 次,每次 4 h,合并提取液,抽滤后将滤液浓缩至稠膏状,转移至烘箱中烘干至恒重,称重,计算收率。见表 1。

2.1.2 索氏提取:称取原料 15 g,适当切碎,置索氏提取器滤纸套筒中,用 10 倍量 95%EtOH 进行索氏提取至虹吸下的溶剂近无色(约 10 h),将提取液浓缩至稠膏状移入烘箱中烘干至恒重,称重,计算收率。见表 1。

2.1.3 渗漉提取:称取原料 50 g,适当切碎,用 95%EtOH 做溶剂润湿后装入渗漉筒中(用玻璃柱代替),加溶剂浸泡 24 h 后开始渗漉,控制流速使其用 20 倍量的溶剂渗漉 72 h 为止。将渗漉液浓缩至调膏状,移入烘箱中烘干至恒重,称重,计算收率。见表 1。

2.1.4 冷浸提取:称取原料 50 g,适当切碎,每次用 10 倍量 95%EtOH 浸提 1 周,共提两次,合并浸提液,抽滤,将滤液浓缩至稠膏状,移入烘箱中烘干至恒重,称重,计算收率。见表 1。

2.1.5 破碎提取:称取原料 50 g,用 10 倍量 95%EtOH 置提取器内,启动开关破碎提取 2 min。提取后的材料已完全破碎成了匀浆状,抽滤后将滤液浓缩至稠膏状,移入烘箱中烘干至恒重,称重,计算收率。见表 1。

\* Address: Yuan Ke, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou

△ 河南省科技攻关资助项目 \*\* 本院中药系毕业实习生

袁珂女,1982-01 毕业于河南大学化学系(大学本科、学士),现在河南中医学院中药系有机化学教研室工作,主要从事中草药有效成分的提取、分离、新药的质量标准和制备工艺方面的研究工作。近年来在国内知名刊物上发表论文 20 余篇,出书三册(均为副主编),完成省级以上课题 3 项,获省科技进步奖一项。

表 1 不同提取工艺所得提取物量及收率的比较

提取方法	95%EtOH	
	提取物量(g)	收率(%)
回流提取	3.78	7.46
索氏提取	1.60	10.67
渗漉提取	2.13	4.26
冷浸提取	2.45	4.90
破碎提取	2.25	4.50

2.2 不同提取工艺中冬凌草甲素的含量比较

2.2.1 薄层层析条件及薄层扫描条件:吸附剂:硅胶 G-0.3%CMC-Na 搅拌均匀后涂布于(10 cm×20 cm)玻璃板上,厚度为 0.5 mm,室温置干后于 105℃活化 1 h 后置干燥器中备用。展开剂:氯仿-甲醇(9:1),上行展开,展距 18 cm。显色剂:50%硫酸乙醇液,喷湿润,100℃~105℃烘烤 5 min,至斑点清晰,取出放凉后在紫外线分析仪(365 nm)下定位,Rf 值在 0.5 左右。

采用反射法双波长锯齿扫描法,狭缝 0.4×0.4 mm,线性参数  $S_x=3$ ,灵敏度中,测定波长  $\lambda_s=246$  nm,参比波长  $\lambda_R=300$  nm。

2.2.2 对照品溶液和样品溶液的制备:精密称取冬凌草甲素对照品 4.75 mg,置 1 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,为 4.75 mg/mL。

分别精密称取冬凌草原料 5 份,其中 4 份各 20 g,另一份 10 g,按上述方法,前 4 份分别进行回流提取、渗漉提取、冷浸提取和破碎提取,后一份进行索氏提取,将提取液分别浓缩至干,然后分别用甲醇适量溶解,加 2%活性炭煮沸脱色,抽滤,除去活性炭,将脱过色的提取液继续浓缩至一定量,分别转移至容量瓶中用甲醇定容至刻度备用。

2.2.3 线性化范围试验:用定量毛细管吸取上述对照品溶液 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0  $\mu$ L 点于同一块硅胶 G 薄层板上,以展开剂展开,取出,晾干,喷以显色剂,烘烤至出现亮黄绿色斑点。放置 30 min 后进行扫描测定。以冬凌草甲素量( $\mu$ g)为横坐标,以斑点峰面积

值为纵坐标作图,得一不通过原点的直线,求得回归方程  $Y=161.66X+88.214$ , $r=0.999(n=5)$ 。结果表明冬凌草甲素在 9.5~47.5  $\mu$ g 范围内,与其峰面积值呈良好的线性关系。

2.2.4 含量测定结果:分别吸取一定量由不同提取方法所制得的样品溶液点于同一硅胶 G 薄层板上,随行点对照品溶液 2  $\mu$ L 和 4  $\mu$ L 进行展开、显色、扫描,用外标两点法计算出各样品中冬凌草甲素的含量,结果见表 2。

表 2 不同提取工艺所得提取物中冬凌草甲素含量测定结果

提取方法	回流提取	索氏提取	渗漉提取	冷浸提取	破碎提取
含量(g/100g)	0.364	0.421	0.354	0.374	0.408
	0.373	0.430	0.361	0.362	0.401
	0.352	0.415	0.365	0.381	0.415
平均含量(%)	0.363	0.422	0.360	0.372	0.408
RSD(%)	2.90	1.79	1.55	2.58	1.72

### 3 讨论

3.1 提取所选溶剂为 95%工业酒精,这是考虑到冬凌草中的有效成分冬凌草甲素在乙醇中既具有很好的溶解度,又加上工业酒精价廉、安全、易得,适合工业化生产用。

破碎提取时间设定为 2 min,是通过实验对比确定的。因为再增加提取时间基本不再增加提取物量,即破碎 2 min 提取基本已达完全。

冷浸提取时间设定每次一周,这是因为在室温下,在短时间内提取溶剂很难浸入组织内部,所以提取率很低,故选定在室温下冷提延长提取时间为每次 1 周。

回流提取和渗漉提取的提取条件(提取溶剂用量、提取时间和提取次数)是通过正交试验优选出的。

索氏提取不太适合工业化生产,但由于提取很完全,故可做为提取冬凌草甲素含量最高值做标准对照。

3.2 由表 1、2 可知,热提即索氏提取和回流提取所得提取物的量和收率相对室温提取较高。不同提取工艺收率高低的一般规律为:索

氏法>回流法>冷浸法>破碎法>渗漉法。

在回流提取法中,溶剂用量较大,为30倍量,加热时间长达数小时。由于药液长时间受热,致使其中的有效成分易改变。另外,热提提出的杂质较多,色重,较难脱色,其提取物收率及冬凌草甲素的含量相对也不高。

3种冷提法(渗漉、冷浸、破碎)所用溶剂用量不同,渗漉和冷浸提取各用20倍量,破碎提取仅用10倍量,从提取时间上看,破碎提取仅为2 min,渗漉提取为72 h,冷浸提取为两周,提取时间差别甚大。从提取物中冬凌草甲素的含量看,破碎法为最高。不同提取工艺冬凌草甲素含量高低的一般规律为:破碎法>冷浸法>回流法>渗漉法。

综合考虑提取时间、提取的完全程度、所用溶剂和能源、所得提取物中冬凌草甲素含

量高低等因素,提取工艺应优选破碎提取或冷浸提取,尤其是破碎提取,尽管收率并不高,但其中所含有效成分冬凌草甲素的含量却居四者首位,并具有提取快速、充分、完全、节省时间、溶剂和能源的特点,使其更具有独到之处,加之不需要大型设备,操作简单,使用方便,投资少,成本低,因此易于被生产厂家采用。

#### 参 考 文 献

- 1 河南省冬凌草研究协作组. 肿瘤防治研究, 1974, 1(2): 86
- 2 河南省医学科学研究所肿瘤药理研究组. 河南医学院学报, 1975, 10(2): 9
- 3 河南医学院肿瘤科. 河南医学院学报, 1975, 10(2): 17
- 4 河南医学院肿瘤科. 河南医学院学报, 1976, 11(5): 22

(1996-10-03 收稿)

### Studies on Different Extraction Processes for Blushred Rabdosia (*Rabdosia rubescens*)

Yuan Ke, Hu Runhuai, Zhang Qingling, et al

Different processes for the extraction of *Rabdosia rubescens* Hemsl were studied by comparing the yield of oridonin as a criterion. Result showed that extraction of the pulverized herbal drug with a specially designed apparatus gave the highest yield of oridonin.

## 大黄流浸膏中大黄素的含量测定

南京军区总医院中山制药厂(210012) 方银杏\* 王玉玺

**摘 要** 大黄是常用中药,大黄流浸膏是中国药典1995年版收载的制剂。本实验对大黄流浸膏中大黄素进行了含量测定,大黄素含量为0.2487%,并对大黄素的含量测定进行了方法学考查,加样回收率为97.30%,RSD为0.77%。

**关键词** 大黄流浸膏 大黄素 含量测定

大黄流浸膏是中国药典1995年版收载的制剂,但缺乏质量控制标准,我们测定了该制剂中大黄素的含量,以期制定质量标准提供依据。

### 1 药品及仪器

大黄:购自南京市药材公司,经检验符合药典规定;大黄素:购自中国药品生物制品检定所,经检验可用于含量测定。所用试剂均为

\* Address: Fang Yinxing, Nanjing Military Area General Hospital, Zhongshan Factory, Nanjing

方银杏 女,1993-07毕业于中国药科大学,获学士学位。分配于南京军区总医院中山制药厂工作,助工。从事新药研制,技术工作。“新清宁胶囊”的研究,是主要研制者之一,该药已于1996-03-22获得“新药证书”。