

组织破碎提取法在中药研究中的应用进展

李精云¹, 刘延泽^{1,2*}

1. 河南中医学院, 河南 郑州 450008

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

摘要: 在对组织破碎提取法的原理和其实现途径闪式提取器进行简要介绍的基础上, 对近 10 年来组织破碎提取法和闪式提取器在中药研究中的应用进展进行了综述。组织破碎提取法具有高效、快速、节能、环保及成分安全的特点, 在中药提取和天然化学成分研究等方面具有广泛的应用前景, 将为中药研究开辟一个新的途径。组织破碎提取法必将对中药现代化和国际化的发展起到积极的推动作用。

关键词: 组织破碎提取法; 闪式提取; 中药; 入药部位; 天然药物

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)10-2145-05

Progress of smashing tissue extraction in research of Chinese materia medica

LI Jing-yun¹, LIU Yan-ze^{1,2}

1. Henan University of Traditional Chinese Medicines, Zhengzhou 450008, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Key words: smashing tissue extraction (STE); flash extraction; Chinese materia medica; medicinal fraction; natural drug

溶剂提取法是中药有效成分提取中最常用的方法, 指采用适当的溶剂和工艺将有效成分从植物组织中溶出并转移至所用溶剂中, 得到含有有效成分的提取液的过程^[1]。因此, 提取是中药化学研究中的首要关键步骤, 提取技术也是决定研究成败的重要环节。溶剂提取法几乎适用于各种化学成分的提取, 关键是要选择适当的溶剂和合适的提取工艺^[2]。传统溶剂提取法主要有煎煮法、浸渍法、回流法、连续回流法、渗漉法等。由于中药所含成分十分复杂, 这些方法在提取有效成分时存在损失大、周期长、工序多、提取率不高等缺点。现代中药提取技术主要有超声波提取、微波萃取、超临界萃取、组织破碎提取等^[3]。其中超声波提取技术在近室温下操作, 安全、收率高, 但其规模小、耗时长; 微波萃取技术快速、易行, 但其规模小, 成分易受高温和微波的影响而变化; 超临界萃取技术也在近室温下操作, 安全、收率高, 但其设备复杂、投资大、规模小。组织破碎提取技术在吸取上述各种提取方

法的优点, 克服其弊端的基础上脱颖而出。该技术不仅可以在室温下操作, 且具有快速、安全、节能、高效、环保及不破坏成分、规模可调、适宜多种溶剂等特点。组织破碎提取法^[4]于 20 世纪 90 年代提出以来, 已经过 10 余年的发展与实践, 在鞣质、多元酚类等化学成分研究方面已取得重大进展^[5-6]。经过近 5 年的发展, 组织破碎提取法在黄酮类、皂苷类等成分的提取和植物不同入药部位及中药复方的提取工艺研究等方面均取得了较大进展, 其快速、高效、节能、环保的特点进一步得到证实与肯定, 为中药提取的研究开辟了新途径。本文按中药不同入药部位进行分类, 对近 10 年来组织破碎提取法在中药研究领域取得的进展进行综述。

1 组织破碎提取法的基本原理和闪式提取器的特点

组织破碎提取法的基本原理是在室温和适当溶剂存在下, 将植物的根、茎、叶、花、果实和种子等物料在数秒钟内破碎至细微颗粒, 同时通过实现高速搅拌、振动、负压渗滤 3 种因素的最佳结合,

收稿日期: 2011-03-25

基金项目: 科技部创新基金资助项目 (07C26214100621)

作者简介: 李精云 (1983—), 女, 河南卫辉人, 硕士研究生, 研究方向为中药质量标准化与国际化。Tel: 13613856693 E-mail: jinnai-yun@163.com

*通讯作者 刘延泽 Tel: (010)57833035 E-mail: yzliu@implad.ac.cn

使有效成分迅速达到药材组织内外平衡,通过滤过达到提取目的^[5]。袁珂等^[7]曾对4种不同的提取方法(冷浸提取、渗漉提取、组织破碎提取和回流提取)进行了比较,结果表明,组织破碎提取与其他方法相比,具有提取快速、完全、室温下进行、节省时间、环保、操作简单和效率高等优点,且该方法适宜各种性质的药材。

组织破碎提取法是通过闪式提取器来实现的,适用于植物软、硬材料。由于完成一次提取一般在数秒至几分钟,其速度为传统提取方法的百倍以上,因此被称之为闪式提取器。闪式提取器的破碎刀头在设计方面既考虑到使药材达到适当颗粒度利于组织内外的平衡,又不至于因颗粒太细而影响下游的滤过。设计时将破碎颗粒范围控制在40~60目,由于颗粒细小,与适当溶剂混合,在高速搅拌与振动下,药材内部的化学成分在极短的时间转移至溶剂中并达到平衡,从而实现提取的目的。进行一次提取一般在1 min左右,即可提取出药材中的70%的成分,滤过后可重复提取2次,依次得到剩余的20%和10%,如能在抽滤过程中以同样溶剂适当淋洗,可收到更好的效果。

2 对中药不同入药部位的研究

2.1 根和根茎类中药

山稔根为桃金娘 *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.的根,具有祛风除湿、止血、止痛的功效。刘延泽等^[8]对桃金娘根中可水解鞣质进行组织破碎提取,共分离得到10余种可水解鞣质及黄酮类、多元酚类等化合物,其主要成分为 castalagin、casuariin、tomentosin、杨梅素-3-O-葡萄糖苷等。

丹参为唇形科鼠尾草植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎,为常用的活血化瘀药。丹参发挥疗效作用的主要物质之一是丹酚酸B,丹酚酸B对热不稳定,为热敏性成分。毕跃峰等^[9]分别采用加热回流提取、超声波提取和组织破碎提取3种方法对丹参中丹参酮 II_A (脂溶性成分)和丹酚酸B (水溶性成分)进行提取,比较不同的提取方法对丹参酮 II_A 和丹酚酸B量的影响。结果表明,组织破碎提取比加热回流提取、超声波提取得到的丹参酮 II_A 和丹酚酸B量高,而且省时节能。

金钗石斛为兰科石斛属植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.的新鲜或干燥茎,石斛碱为其主要活性成分。钱桂敏等^[10]对金钗石斛鲜品进行了组织破碎提取,并运用提取次数、溶剂浓度和溶

剂倍数3个因素进行正交试验,优化最佳提取工艺。结果表明,乙醇体积分数和提取次数对石斛碱的量有影响,溶剂倍数无影响。最佳提取工艺为用8倍量75%乙醇,破碎提取3次,每次30 s,所得石斛碱量最高,为0.45%。

小叶黑柴胡 *Bupleurum smithii* Wolff var. *parvifolium* Shan et Y. Li 为伞形科柴胡属植物,主要分布于我国青海、宁夏、山西、内蒙古等地,其根作柴胡药用,具有和解退热、疏肝解郁、升阳举气的功效,柴胡皂苷是其主要活性成分之一。汤芳玲等^[11]分别以超声波提取法、回流提取法、组织破碎提取法对小叶黑柴胡的地下部分进行了提取,以柴胡皂苷a、d的量之和为考察指标,结果以组织破碎提取法提取两次优于超声提取法和回流提取法。

2.2 全草类中药

柳兰为柳叶菜科植物柳兰 *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. 的干燥全草,具有治疗乳汁不下、肠燥便秘、月经不调、骨折及关节扭伤的作用,对采自湖北神农架的柳兰干燥地上部分以含水丙酮为溶剂进行组织破碎提取,对去除丙酮的浓缩物进行反复柱色谱,分离鉴定出黄酮苷、绿原酸、小分子酚类化合物及可水解鞣质单体和二聚体的18种化合物^[12]。

车前草为车前科植物车前 *Plantago asiatica* L.或平车前 *P. depressa* Willd.的干燥全草,又名车前、车轮菜、猪耳草、钱串草等。车前草中主要有效成分为乌苏酸、车前苷、桃叶珊瑚苷等,乌苏酸具有较强的抗肿瘤活性。袁珂等^[13]对车前草的不同提取方法进行了比较研究,以95%乙醇作溶剂,采用回流提取、索氏提取、渗漉提取、冷浸提取、组织破碎提取5种提取方法,以提取物收率和乌苏酸量为考察指标。结果表明,5种不同提取方法所得提取物收率高低依次为:索氏法(10.24%)>回流法(8.36%)>冷浸法(6.10%)>组织破碎法(6.04%)>渗漉法(5.48%);不同提取方法所得提取物中乌苏酸量高低依次为:索氏法(0.308%)>组织破碎法(0.294%)>冷浸法(0.278%)>渗漉法(0.266%)>回流法(0.257%)。尽管组织破碎法提取的收率并不高,但所含有效成分乌苏酸的量仅次于索氏法,高于其他方法;在提取时间上与其他方法相比,破碎法只提取1次,耗时2 min,而其他方法分别为冷浸法72 h、渗漉法72 h、索氏法12 h、回流法

9 h, 组织破碎法所用时间仅是其他方法的几分之一, 显示了该方法的快速、不需加热、环保及所提有效成分量较高的特点。因此, 车前草的提取方法应优选组织破碎提取法。

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 为葫芦科绞股蓝属多年生蔓生草本, 又名七叶胆、甘茶蔓, 全草入药, 味甘、微苦, 性凉无毒。绞股蓝皂苷为其主要活性成分, 具有明显的抗肿瘤作用, 并且对神经、血液、循环、内分泌和消化系统等多方面疾病具有防治作用。刘振洋等^[14]运用闪式提取器对绞股蓝进行组织破碎提取, 并与加热回流提取、超声波提取进行比较。实验结果表明: 从提取物总皂苷收率分析, 组织破碎提取法最高; 从时间上考察, 组织破碎提取最短, 仅需 4 min, 而乙醇回流提取和超声波提取分别需要 6 h 和 1.5 h; 从提取温度来看, 超声波法和乙醇回流法分别为 60 ℃ 和 100 ℃, 而组织破碎提取法是在室温下进行, 最大程度避免了对皂苷的破坏。从而得出结论, 利用组织破碎提取法提取绞股蓝总皂苷是一种更安全、更快速、更节能、更高效的提取方法。

2.3 叶类中药

Yoshida 等^[15]曾以欹花叶为研究对象, 选用 95% 乙醇和 70% 丙酮为溶剂, 运用组织破碎提取法分别进行提取, 同时采用回流提取法作为对照。实验结果表明: 在两种提取方法中, 70% 丙酮比 95% 乙醇对上述药材所含有效成分具有更强的穿透能力和溶解能力; 当用 70% 丙酮作溶剂时, 上述药材分别采用两法进行提取所得干燥提取物的收率几乎一样, 但由于组织破碎提取仅用 1 min 完成, 且不需加热, 而回流提取 1 次就需要 2 h, 提取效率较后者提高 100 倍以上, 节约了能源。

银杏 *Ginkgo biloba* L. 为银杏科银杏属植物, 又名公孙树, 为现存古代孑遗植物之一, 是我国的特产植物。银杏叶具有益心敛肺、化湿止泻等作用, 银杏内酯以及黄酮类等化合物为其活性成分。王平等^[16]采用组织破碎提取法从银杏叶中提取银杏萜类内酯, 通过正交试验进行提取工艺考察, 用高效液相色谱法测定银杏内酯的量。结果表明: 组织破碎提取银杏叶中萜类内酯的最适工艺为植物粒径 50 目(破碎粒度), 提取时间 5 min, 乙醇体积分数 60%, 液固比 20:1, 此条件下萜类内酯提取率最高, 平均值可达 1.712 mg/g。说明组织破碎提取法是一种有效的提取银杏萜类内酯的方法。

竹叶为禾本科竹亚科刚竹属植物淡竹 *Phyllostachys nigra* (Lodd. ex Lindl.) Munro var. *henonis* (Mitf.) Stapf ex Rendle 的叶, 竹叶黄酮(主要以异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷为主)为其主要活性成分, 具有抗衰老、抗应激、抗疲劳、调节血脂、增强免疫能力、抗菌等作用。谢捷等^[17]通过单因素试验优化竹叶黄酮的组织破碎提取工艺, 并将粗提物经 AB-8 大孔吸附树脂纯化得到总黄酮, 同时与传统乙醇回流法进行比较, 提取时间从 3 h 缩短到 40 s, 总黄酮得率提高了 20.2%, 其中, 异荭草苷得率提高了 63.3%。研究者还采用 DPPH 法对两种方法得到的总黄酮进行了抗氧化活性研究, 组织破碎提取法所得总黄酮的清除自由基效果优于回流法所得总黄酮。从而说明组织破碎提取法是一种简单、高效的提取竹叶黄酮的方法。

2.4 花类中药

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或初开的花, 具有清热解毒、抗菌消炎、保肝利胆等功效, 绿原酸和木犀草苷是金银花药材中有代表性的药效成分。赵先恩等^[18]采用组织破碎提取法和超声波提取法分别提取金银花及其叶中的绿原酸和木犀草苷, 运用 HPLC-DAD 分析方法进行评价。结果表明: 对金银花进行组织破碎提取 3 min 时, 绿原酸和木犀草苷的提取率均略高于超声波提取法, 而超声波却需要提 3 次, 每次 45 min, 浸泡 16 h。同时, 还对金银花叶、红金银花、红金银花叶进行相同的实验, 均得到相似的结论。从而为金银花药材中绿原酸和木犀草苷的快速提取及质量控制提供了一种新方法。

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序, 是临床常用中药, 具有清热解毒、祛风明目、消肿等功效, 绿原酸是其中的主要有效成分之一。符玲等^[19]采用回流提取法、组织破碎提取法及超声波提取法分别对野菊花进行提取, 利用反相高效液相色谱法测定 3 种方法所得提取物中绿原酸的量。结果表明, 组织破碎提取法和加热回流提取法的提取效率比较接近, 且均高于超声波提取法; 加热回流提取法的提取效率最高, 但组织破碎提取法与加热回流提取法相比具有简便、快捷、省时省力和节约能源的优点。同时研究还发现, 组织破碎提取前的浸泡时间和滤过前的静置时间 2 个参数对野菊花中绿原酸的提取效果影响较大, 建议在使用组织破碎提取法时可将这 2 个

参数作为主要考察指标。

2.5 果实和种子类中药

罗汉果为葫芦科植物罗汉果 *Momordica grosvenori* Swingle 的干燥果实, 具有镇咳祛痰、泻下通便等作用, 是我国广西特有的药食同源植物, 对其研究一般集中在苷类成分。刘静等^[20]运用组织破碎提取法对罗汉果中多种活性成分进行了提取, 采用树脂分离法制备有效成分, 再通过高效液相色谱法对各成分进行检测。结果表明: 组织破碎提取法在罗汉果提取方面具有效率高、时间短、能耗低的特点, 较适合其工业化生产; 罗汉果的利用率由 4% 左右 (甜苷利用率) 提高到 50% 以上, 对罗汉果综合开发具有重要意义。

算盘子为畚族常用植物药, 在民间有着长期和广泛的应用, 用于治疗感冒发热、咳嗽、痢疾、急性胃肠炎、消化不良、肝炎、风湿性关节炎、跌打损伤以及妇科、皮肤科、口腔科等疾病。黄灿等^[21]运用闪式提取器对畚药算盘子化学组分进行了组织破碎提取, 通过 GC-MS 分离鉴定了算盘子挥发性组分中的 35 个化合物, 利用 LC/Q-TOF-MS 对算盘子硅胶柱色谱分离的部分组分进行了分析, 获得了 6 个化合物的相对分子质量及其化学式。

3 对中药复方的研究

伴抗宁口服液是由黄芪、甘草、白术等 5 味中药组成的复方制剂, 有保持肠道微生态平衡, 纠正肠道微生态失衡, 防治肠源性感染的功效。于敏等^[22]运用组织破碎提取法对伴抗宁口服液中黄芪、甘草、白术药材进行了提取, 采用正交试验法, 以苯酚-硫酸比色法测定总多糖的量为评价指标, 优选出伴抗宁口服液的最佳提取工艺条件, 结果表明组织破碎提取法快速、安全、省时和节能的特点, 为伴抗宁口服液的生产提供了生产依据。

4 对保健品的研究

绿茶中主要的化学成分包括多酚、氨基酸、糖类、咖啡因等碱性成分及微量元素等, 此类成分与人们的健康密切相关。其中茶多酚主要由 4 种化合物组成, 其中表没食子酰儿茶素没食子酸酯量最高, 且为绿茶防癌的主要成分。刘延泽等^[23]以普通信阳毛尖绿茶为原料进行组织破碎提取, 3 次提取收率总和达到 50% 以上, 3 次提取之间的比例基本为 9:3:1, 说明两次提取已基本完全。

5 结语与展望

组织破碎提取法自 20 世纪 90 年代提出以来,

已成功地将其应用于药用植物的根、茎、叶、花、果实、种子及全草等不同入药部位的提取, 10 余年的发展与实践结果表明, 该方法具有高效、快速、节能和环保的特点, 且于室温下短时间即可实现常规方法中长时间加热提取的效果, 并且可以有效地保护热敏性成分不被破坏, 从而为中药现代化研究的关键步骤——提取工艺开创了一个新的领域; 为中药材的快速提取、质量检测 and 保健品的开发提供一种新的手段。

组织破碎提取法不仅适用于不同质地的动植物材料, 还可有效地应用于不同类型的化学物质。已经应用且已取得成功经验的有鞣质类、多酚类、黄酮类、皂苷类、萜类、生物碱类等生物活性成分, 可以预计, 在天然产物研究中, 组织破碎提取法还将会发挥更加巨大的潜力。闪式提取器高效、快速、节能、降耗、节省溶剂、环保等诸多特点将为中药现代化研究与生产带来重大变革, 从而为我国中药现代化和国际化做出相应的贡献。

中药在临床上大多是以复方的形式应用, 组织破碎提取法具有高效、快速、节能、环保的特点, 将为中药复方的提取工艺研究带来极大的便利, 但将其应用于中药方剂的提取仅刚刚开始, 创新研究的空间和前景很大; 组织破碎提取法多数情况适用于动物类药材的提取, 但亦有待进一步研究证实。对于韧性极强的皮类药材、毛发类药材、骨骼类药材、矿物类药材组织破碎提取法的优势也是很明显的, 但不宜直接使用目前的闪式提取器, 需要视具体原料的不同而采取专门的特殊处理后方可进行。在具体应用中, 尚需按照操作规程进行摸索试验, 方可将其高效、快速、节能、环保的特点充分发挥出来。

参考文献

- [1] 肖崇厚. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [2] 冀春茹, 王浴铭. 中药化学实验技术与实验 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1983.
- [3] 冯育林, 谢平, 吴蓓, 等. 中药提取工艺应用进展 [J]. 中药材, 2002, 25(12): 908-911.
- [4] 刘延泽, 袁珂, 冀春茹. 中草药化学成分提取新方法: 植物组织破碎提取法 [J]. 河南科学, 1993, 4(11): 265-268.
- [5] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 401-407.
- [6] 刘延泽, 卢付军, 毕跃峰, 等. 闪式提取器 [P]. 中国

- 专利: ZL200520031604. 9, 2006-08-30.
- [7] 袁珂, 刘延泽, 冀春茹. 中草药化学成分研究中几种不同提取方法的比较研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(4): 57-61.
- [8] 刘延泽, 侯爱君, 冀春茹, 等. 桃金娘中可水解丹宁的分离与结构 [J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(1): 14-19.
- [9] 毕跃峰, 贾陆, 张小娟, 等. 不同提取方法对丹参中丹参酮II A 和丹酚酸B 含量测定的影响 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(7): 1209-1211.
- [10] 钱桂敏, 王平, 郭峰. 金钗石斛鲜品闪式提取方法的工艺研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 38-39.
- [11] 汤芳玲, 袁波, 蔡光明, 等. 小叶黑柴胡中柴胡皂苷的闪式提取工艺研究 [J]. 中草药, 2009, 40: 160-162.
- [12] 刘延泽, 王彩芳, 韩全斌, 等. 柳兰化学成分研究II. 鞣质及多元酚类化合物 [J]. 中草药, 2003, 34(11): 967-969.
- [13] 袁珂, 简秀梅, 孟江. 车前草不同提取方法的比较研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 1999, 16(4): 20.
- [14] 刘振洋, 刘延泽, 刘改岚, 等. 绞股蓝总皂苷的闪式提取和纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1071-1073.
- [15] Yoshida T, Tanei S, Liu Y Z, *et al.* Tannins and related polyphenols of Hamamelidaceous plants. Part 6. Hydrolyzable tannins from *Loropetalum chinense* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(5): 1287-1292.
- [16] 王平, 陈丹龙, 朱兴一, 等. 闪式提取银杏叶萜类内酯的工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2825-2826.
- [17] 谢捷, 周萍萍, 朱兴一, 等. 竹叶黄酮的闪式提取及抗氧化活性研究 [J]. 食品科技, 2010, 35(5): 194-198.
- [18] 赵先恩, 耿岩玲, 王岱杰, 等. 闪式提取 HPLC-DAD 测定金银花中绿原酸和木犀草苷 [J]. 分析试验室, 2010, 29(5): 77-80.
- [19] 符玲, 毕跃峰, 田新慧, 等. 野菊花中绿原酸的不同提取工艺比较 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2010, 45(3): 499-501.
- [20] 刘静, 荣永海, 王志滨, 等. 罗汉果有效成分的连续提取与分离 [J]. 中药材, 2010, 33(4): 629-632.
- [21] 黄灿, 杨天鸣, 贺建云, 等. 畚药算盘子闪式提取物的色谱-质谱联用分析 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 872-874.
- [22] 于敏, 张婧, 孙忻. 正交试验法优选伴抗宁口服液的闪式提取工艺 [J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21(7): 651-654.
- [23] 刘延泽, 冀春茹, 苗明三, 等. 速溶绿茶及其加工工艺 [P]. 中国专利: CN93104663. 7, 1993-12-15.