

复方溃疡膏药材麻油炸枯提取与 SFE-CO₂ 萃取工艺的比较研究

李静^{1,2}, 杨博华³, 杨丽娟¹, 张玉杰^{1*}

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 2. 北京积水潭医院 中药房, 北京 100035;
3. 北京中医药大学 东直门医院, 北京 100700)

【摘要】 目的: 研究复方溃疡膏药材麻油炸枯提取与 SFE-CO₂ 萃取在化学成分上是否存在差异。方法: 采用薄层色谱法对上述 2 种提取物中大黄、白芷和川芎的主要指标性成分进行定性分析; 采用 HPLC 分别对上述 2 种提取物中欧前胡素、阿魏酸和游离蒽醌进行定量分析。结果: 麻油提取物薄层色谱中 R_f 较小组分的斑点颜色相对较浅, 但斑点数量与 SFE-CO₂ 萃取物无明显差异。定量分析表明, SFE-CO₂ 萃取物中游离蒽醌转移率明显高于麻油提取物, 为麻油提取物的 1.9 倍; 麻油提取物中欧前胡素与阿魏酸的转移率较超临界萃取的转移率稍高, 麻油提取欧前胡素接近完全, SFE-CO₂ 萃取的转移率也可达到 77.08%; 而阿魏酸两者的提取率均较低, 转移率均不足 10%。结论: SFE-CO₂ 与传统麻油炸枯提取物主要成分大类相似, 多指标含量相近。而 SFE-CO₂ 萃取物无提取溶剂限制, 有利于后续剂型的设计、改进。

【关键词】 复方溃疡膏; SFE-CO₂ 萃取; 麻油炸枯提取; 化学成分比较

溃疡膏原工艺采用麻油炸枯的传统制备工艺进行药材提取, 提取过程与提取物的稳定性均存在一些问题。为了能够将临床验方更好地继承和发展, 更加广泛便捷地应用于临床, 溃疡膏的剂型亟待改进。本文进行 SFE-CO₂ 萃取物与麻油炸枯提取液定性与定量的比较, 从而探讨 SFE-CO₂ 萃取法替代原有传统麻油提取法的可行性。

1 材料

JJ500 型电子分析天平(G&G 公司); BP211D, BS110S 型电子分析天平(Sartorius 公司); ZF-90 型多功能暗箱式紫外透射仪(上海顾材电光仪器厂); TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); 岛津 LC-20A 高效液相色谱仪。

大黄、白芷、川芎药材, 河北康派饮片厂生产, 经北京中医药大学张贵君教授鉴定, 大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根及根茎, 白芷为伞形科植物杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根, 川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。大

黄素对照品(自制, 含量 >98%); 芝麻油(市售); 大黄酚(110796-200716)、大黄酸(110757-200206)、欧前胡素(110826-200712)、异欧前胡素(110827-200407) 和阿魏酸(110773-200611) 对照品购自中国药品生物制品检定所; 硅胶薄层色谱预制板(青岛海洋化工厂); 甲醇、乙腈为色谱纯试剂; 超纯水(自制), 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溃疡膏药材提取物的制备

2.1.1 SFE-CO₂ 萃取物的制备 将等量 3 种药材饮片粉碎后, 过 40 目筛, 混合均匀, 装入萃取釜, 设定萃取温度为 55 ℃、萃取压力为 30 MPa, 萃取 1 h。所得萃取物为橙黄色稠膏, 色泽鲜艳, 具有特殊芳香气味。每克提取物相当于 11.59 g 生药材。

2.1.2 麻油提取物的制备 取等量 3 种药材, 酌予破碎成小块, 按 1:15 加入麻油, 炸枯后, 去渣, 滤过, 灭菌, 即得。所得药材麻油提取物为棕色油状黏稠液体, 具有麻油香气。每克油相当于 0.056 g 生药材。

2.2 定性鉴别

2.2.1 溶液的制备 称取麻油提取物 3 g, 加入 6 g 硅藻土研匀, 加入甲醇 100 mL, 超声处理 30 min, 取出, 放置过夜。取上清液 50 mL, 减压浓缩至干, 残渣加 1 mL 乙酸乙酯溶解, 即得麻油炸枯提取物供试

【稿件编号】 20110314010

【通信作者】 * 张玉杰, 博士, 教授, Tel: (010) 84738618, Fax: (010) 84738611, E-mail: zhyj227@126.com

• 2334 •



液。称取 SFE-CO₂ 萃取物适量,加乙醇充分溶解,制成每 1 mL 含 15 mg 提取物的溶液,即得 SFE-CO₂ 萃取物供试液。分别取大黄、白芷、川芎对照药材适量,同供试品制备方法制成对照药材溶液。

称取大黄酚、大黄素、大黄酸对照品加甲醇配制成 1 g · L⁻¹ 的溶液,作为薄层色谱对照品溶液。称取欧前胡素、异欧前胡素对照品适量,加乙酸乙酯配制成 1 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

分别按方中药味比例配制不含待检药材的阴性样品,依各供试品溶液方法制备。作为大黄、白芷、川芎阴性对照溶液。

2.2.2 大黄、白芷的 TLC 定性鉴别 分别吸取各供试液、大黄及白芷对照药材溶液、大黄酚、大黄素及大黄酸混合对照品溶液、欧前胡素和异欧前胡素混合对照品溶液、大黄阴性对照液及大黄白芷阴性对照液 4 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60℃)-乙醚(3:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。结果 2 个供试品溶液在与大黄酚、大黄素斑点对照品、大黄对照药材溶液相应的位置上,显相同的橙黄色荧光,置氨蒸气熏蒸后,斑点变为红色,此位置上相应的大黄阴性对照无干扰;同时 2 个供试品溶液可分辨出欧前胡素、异欧前胡素斑点,显相似的淡蓝色荧光,相应的白芷阴性对照无干扰。麻油提取液与 SFE-CO₂ 萃取物所含物质大致相同,但处于最上部,靠近溶剂前沿的斑点,橙黄色荧光区域有所不同,预示着在麻油提取液与 SFE-CO₂ 萃取物含量上有一定差异。

2.2.3 川芎的 TLC 定性鉴别 吸取麻油提取液供试品溶液、SFE-CO₂ 萃取物供试品溶液、川芎对照药材溶液、川芎阴性对照品溶液各 4 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为正己烷-乙酸乙酯(9:1),展开后,取出晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。麻油提取液、SFE-CO₂ 萃取物在与川芎对照药材相应的位置上,显示相同颜色的 1 个亮蓝色荧光斑点,此处川芎阴性对照液无干扰,可以作为提取物中川芎鉴别的依据。

2.3 欧前胡素 HPLC 含量测定方法的建立^[2]

2.3.1 色谱条件 迪马(钻石) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm 5 μm);流动相甲醇-水(62:38);检测波长 310 nm;流速 1 mL · min⁻¹;柱温 30℃。

2.3.2 溶液的制备 吸取药材麻油提取液 4 g,精

密称定,加入 8 g 硅藻土研匀,加入甲醇 50 mL,超声处理 30 min,取出放冷,补足失重,摇匀,用 0.45 μm 滤膜滤过,即得麻油提取物供试品溶液。取药材 SFE-CO₂ 萃取液 0.1 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,滤过,即得 SFE-CO₂ 萃取物供试品溶液。

精密称取欧前胡素对照品适量,加甲醇制成 0.123 g · L⁻¹ 的溶液,滤过,即得欧前胡素对照品溶液。

按方中药味比例配制不含白芷的阴性样品,依供试品溶液方法提取和制备,作为白芷阴性对照溶液。

2.3.3 方法学考察 专属性试验:供试品中欧前胡素与杂质可实现基线分离,同时阴性对照液中其他成分对欧前胡素测定无干扰。

标准曲线的绘制:精密吸取欧前胡素对照品溶液 1.3 5.7 9 μL,按 2.3.1 项下色谱条件分别进样,测定,记录峰面积。以峰面积(Y)与对照品的进样量(X)进行回归处理,得回归方程 $Y = 2599616.1X - 3544.8$, $r = 0.9999$,线性范围 0.123~1.107 μg。

精密度试验:精密吸取上述对照品溶液 10 μL,连续测定 5 次,测得的峰面积值 RSD 1.4%。

稳定性试验:按供试品溶液制备方法制备,分别于制备后 0.3 6 9 12 h 测定欧前胡素峰面积,测得的峰面积 RSD 2.7%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

重复性试验:取同一麻油炸枯样品 5 份,按供试品溶液的制备方法制备,进样,依法分别测定,计算欧前胡素为 0.0217 mg · g⁻¹,RSD 2.6%。

加样回收率试验:取已知含量(0.0217 mg · g⁻¹)的样品 2 g,精密称定,共 5 份,分别加入质量浓度为 3.72 mg · L⁻¹ 欧前胡素对照品溶液 10 mL,按供试品制备项下方法制备,进样 20 μL,测定峰面积,计算回收率。测得平均回收率为 101.4%,RSD 2.0%。

2.4 总阿魏酸 HPLC 法测定方法的建立

2.4.1 色谱条件 迪马(钻石) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm 5 μm);流动相乙腈-0.54% 醋酸水溶液(20:80);检测波长 320 nm;流速 1 mL · min⁻¹;柱温 30℃。

在此色谱条件下,供试品中阿魏酸与前峰实现基线分离,与对照品的保留时间基本一致,指认为阿魏酸目标峰。



2.4.2 溶液的制备^[3] 吸取药材麻油提取液4 g,精密称定,加入8 g 硅藻土研匀,加70%甲醇50 mL,避光超声处理30 min,取出避光放冷,补足失重,摇匀,滤过,取续滤液,即得麻油提取物供试品溶液。

吸取药材SFE-CO₂萃取液0.1 g,精密称定,置10 mL量瓶中,用乙醇充分溶解,再用乙醇定容,摇匀,过滤,即得SFE-CO₂萃取物供试品溶液。

精密称取阿魏酸对照品适量,加甲醇配制成0.012 8 g·L⁻¹的溶液。摇匀,滤过,即得阿魏酸对照品溶液。

2.4.3 方法学考察 精密吸取阿魏酸对照品溶液2, 6, 10, 14, 18 μL,按上述色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以峰面积(Y)与对照品的进样量(X)进行回归处理,得回归方程 $Y = 5\,711\,338.3X - 747.8$, $r = 0.999\,9$,线性范围0.025 6~0.230 4 μg。

精密度试验:精密吸取对照品溶液10 μL,按上述色谱条件进样,连续测定5次,测得的峰面积值RSD为0.66%。

稳定性试验:按供试品溶液制备方法制备,在制备后0, 3, 6, 9, 12 h测定峰面积,测得的阿魏酸峰面积RSD为2.6%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

重复性试验:取同一麻油炸枯样品5份,按供试品溶液的制备方法制备,依法进样,测定,计算欧前胡素质量分数为8.02 μg·g⁻¹,RSD 2.6%。

加样回收率试验:取已知量(8.02 μg·g⁻¹)的样品2 g,精密称定,共5份,分别加入阿魏酸对照品溶液(8.57 mg·L⁻¹)2 mL,按供试品制备项下方法制备,进样20 μL,测定峰面积,计算回收率。测得平均回收率为98.92%,RSD 3.0%。

2.5 游离蒽醌紫外分光光度法测定方法的建立^[4]

2.5.1 溶液的制备 取药材麻油炸枯提取液3 g,精密称定,加入6 g 硅藻土研匀,加入甲醇100 mL,超声处理30 min,取出放冷,用甲醇稀释至刻度,摇匀,放置过夜。取上清液50 mL回收溶剂至干,加入3 mL 醋酸乙酯溶解并转移至10 mL量瓶中,加入2.5 mL 0.5% 醋酸镁乙醇溶液,甲醇定容,摇匀,即得麻油提取物供试品溶液。

吸取药材超临界萃取液1 g,精密称定,置10 mL量瓶中,同上法制备,摇匀,即得SFE-CO₂萃取物供试品溶液。

精密称取大黄素对照品11.39 mg,用甲醇定容至50 mL量瓶中,制成0.228 g·L⁻¹的溶液。摇匀,

即得大黄素对照品溶液。

取芝麻油3 g,精密称定,依照供试品制备方法制备,即得样品空白液。

按方中药味比例配制不含大黄的阴性样品,依供试品溶液方法提取和制备。作为大黄阴性对照溶液。

2.5.2 方法学考察 专属性试验及测定波长选择:依法制备供试品及阴性对照液,以样品空白液进行基线校准,依法在400~600 nm全波长扫描。供试品全波长扫描图显示供试品在518 nm处有最大吸收,阴性对照液全波长扫描图显示阴性对游离蒽醌的测定无干扰,故选518 nm作为检测波长。

标准曲线的绘制:精密吸取大黄素对照品溶液0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL,分别置10 mL量瓶中,依法制备、显色,摇匀,得到质量浓度为4.56, 6.83, 9.11, 11.39, 13.67 mg·L⁻¹的系列溶液。同时制作空白,即不加大黄素对照品,依前法制备。用分光光度计于波长518 nm处测定吸光度。以吸光度(Y)与对照品浓度(X)进行回归处理,得回归方程 $Y = 46.88X + 0.006\,5$, $r = 0.999\,7$,线性范围4.56~13.67 mg·L⁻¹。

同法经5次测定得大黄素对照品溶液的吸光度精密度的RSD为0.24%。制备后的样品溶液放置2 h测得吸光度的RSD为1.4%,说明制备后2 h内稳定。同一样品经5份重复测定,计算游离蒽醌平均含量为0.056 6 mg·g⁻¹,RSD 2.8%。加样回收率试验测得平均回收率为98.50%,RSD 1.6%。

2.6 麻油提取液与超临界萃取物各成分含量比较

根据前述建立各成分含量测定方法,分别测定了2种提取物中欧前胡素、阿魏酸和游离蒽醌的含量。根据原药材的含量,计算转移率,结果见表1。

3 讨论

麻油提取液色谱中R_f较小组分斑点颜色相对较浅,但斑点数量与SFE-CO₂萃取物无明显差异。对照二者的多指标含量测定结果,SFE-CO₂萃取物中游离蒽醌转移率明显高于麻油提取液。其中SFE-CO₂萃取物中游离蒽醌的转移率是麻油提取液的1.9倍,说明超临界萃取方法对游离蒽醌提取比麻油提取更加充分。麻油提取液中欧前胡素与阿魏酸的转移率较SFE-CO₂萃取物的转移率高。其中麻油提取液中欧前胡素提取接近完全,从某种程度上支持了传统麻油提取方式的可行性。但是,SFE-CO₂萃取物最高转移率也可达到77.08%。2种方

表1 麻油炸枯提取液与超临界提取物多指标含量测定比较

提取物	游离蒽醌			欧前胡素			阿魏酸		
	提取物/药材 /mg · g ⁻¹	药材中量 /mg · g ⁻¹	转移率 /%	提取物/药材 /mg · g ⁻¹	药材中量 /mg · g ⁻¹	转移率 /%	提取物/药材 /mg · g ⁻¹	药材中量 /mg · g ⁻¹	转移率 /%
麻油提取液	1.04	9.24	11.21	0.391	0.393	99.49	0.702	0.911	77.08
超临界萃取物	2.08	9.75	21.28	0.048 3	0.520	9.28	0.031 3	0.434	7.22

法的阿魏酸转移率都比较小,不足10%。因此选择阿魏酸作为指标性成分进行考察,有待讨论。文献报道,阿魏酸最佳超临界萃取温度为70℃,萃取压力35 MPa,萃取时间为2 h^[5-6]。可见选取萃取温度较低,兼顾挥发油部分的提取,会影响到阿魏酸物质的转移率。

综合3种指标性成分的转移率,说明2种提取方法具有可比性,物质提取的差别不大。并提示SFE-CO₂萃取替代传统麻油为溶剂的提取方法具有可行性。提取物的疗效是否能等同有待进一步药效学研究。

[参考文献]

- [1] 王承智,石荣,吴志宏,等. 超临界流体萃取技术在中药新药研发中的应用[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(2): 20.
- [2] 邓捷圆,高广慧,赵春杰,等. HPLC法同时测定不同产地白芷中2种香豆素的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 354.
- [3] 张村,李丽,耿立冬,等. 川芎药材有效成分鉴别及其含量标准研究[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(2): 66.
- [4] 魏玉辉,武新安,陈岚,等. 大黄蒽醌类成分含量测定方法研究[J]. 兰州大学学报: 医学版, 2005, 31(1): 13.
- [5] 孟兆青,杨中林. 生大黄与酒炙大黄不同溶剂提取液中游离蒽醌、结合蒽醌的含量比较[J]. 中成药, 2005, 27(1): 49.
- [6] 张虹,柳正良,王洪泉,等. 超临界萃取法提取川芎中有效成分的研究[J]. 中草药, 2001, 32(12): 1077.

Component difference of herb materials extracts with sesame oil fry and SFE-CO₂ technique for compound ulcer oil

LI Jing^{1,2}, YANG Bohua³, YANG Lijuan¹, ZHANG Yujie^{1*}

(1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Department of Chinese Pharmacy, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China;

3. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the component difference of herb materials extracts of sesame oil fry and SFE-CO₂ technique for compound ulcer oil. **Method:** Qualitative analysis of main component of dahuan, baizhi and chuangxiang in two extracts above was conducted by TLC. The contents of total anthraquinones, imperatorin and ferulic acid in two extracts were determined by UV and HPLC. **Result:** TLC experiment found that spots color of small R_f value component in oil extract were lighter than that in SFE-CO₂ extract, but there was not obvious different between two extracts. Quantity analysis showed that SFE-CO₂ extract owned much higher transfer rate of total anthraquinones, and it was 1.9 times of oil extract. Ferulic acid was similar in two extracts, and they were all below 10%. The contents of imperatorin in oil extracts were slight higher than that in SFE-CO₂ extract. **Conclusion:** The components in the extracts of sesame oil fry for the herb materials of compound ulcer oil are the same as SFE-CO₂ extract. Because SFE-CO₂ extracts have no solvent limited for next preparation, it has more advantage.

[Key words] compound ulcer oil; SFE-CO₂; sesame oil fry; chemical component

doi: 10.4268/cjcm20111706

[责任编辑 马超一]