

[研究简报]

高压微波辅助提取法提取牛黄上清丸中的黄芩苷

王玉堂, 于永, 汪子明, 周新, 白立飞, 丁兰, 张寒琦
(吉林大学化学学院, 长春 130012)

关键词 微波辅助提取; 牛黄上清丸; 高效液相色谱法; 黄芩苷

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2006)10-1862-03

牛黄上清丸是一种常用的中成药,其组成为人工牛黄、大黄、黄连及黄芩等十九味中药,辅料为蜂蜜,具有清热泻火、散风止痛的作用,黄芩苷是其主要的有效成分之一.在中药蜜丸中提取有效成分,常用的方法是将蜜丸直接置于提取剂中,或者加硅藻土使蜜丸分散均匀^[1,2].微波提取在天然药用植物有效成分的提取中已有广泛应用^[3~8].最近,汪子明等^[9]利用微波辅助提取技术提取口红中的芳香胺类化合物,方法更加方便,快速.微波提取法用于蜜丸中有效成分的提取还未见报道.本文采用高压微波辅助提取法提取牛黄上清丸中的黄芩苷,利用蜜丸的粘性,将蜜丸涂敷在自制毛玻璃片表面后,置于高压微波提取装置中进行提取,同时与直接将蜜丸切块置于微波装置进行了对比.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 Ailgent 1100 高效液相色谱仪;北京盈安科技有限公司 WR-C 微波样品处理系统(带有控压及控温装置);提取罐为双层密封罐,内罐材料为 TFM;自制毛玻璃片(25 mm × 75 mm).

黄芩苷标准品购于中国药品生物制品检验所;甲醇(HPLC 级试剂);实验用水为二次蒸馏水;其它试剂均为分析纯.牛黄上清丸购于长春市吉林大药房,5个不同厂家生产的牛黄上清丸分别用样品1、样品2、样品3、样品4和样品5标示.

1.2 实验方法 (1)微波提取法 A(切块法):取10丸牛黄上清丸混匀,作为储备样.取适量样品切成10 mm³大小的药块,取出0.5 g置于提取罐内罐中,加入30 mL体积分数为70%的乙醇溶液,盖上压力盖,密封.将提取罐放入微波样品处理系统中,微波压力设定为3 kPa,时间设定为4 min.提取完全后,取出提取罐冷却至室温,打开罐,将罐内提取液过滤,用少量提取液清洗提取罐,将提取液一并转移至50 mL容量瓶中,用体积分数为70%的乙醇定容至刻度.分析前经0.45 μm微孔滤膜过滤.

(2)微波提取法 B(涂片法):取牛黄上清丸储备样品适量,用药匙将样品均匀地涂敷在毛玻璃片表面,所涂样品的位置不应超过罐内提取液的液面高度.以毛玻璃片被涂样品前后的质量差确定被涂到毛玻璃片上样品的质量.将涂敷样品后的毛玻璃片置于提取罐内罐中,加入30 mL体积分数为70%的乙醇提取剂提取,而后的操作与(1)中方法相同.

(3)超声提取法:超声波提取采用与微波提取法相同的溶剂,分别将切块样品(超声提取法 A)和涂敷样品的毛玻璃片(超声提取法 B)置于烧杯中,置于超声波仪器中提取30 min,将样品液过滤后转移至50 mL容量瓶中,用提取液定容至刻度.

(4)索氏提取法:以150 mL体积分数为70%的乙醇为提取剂,分别将切块样品(索氏提取法 A)和涂敷样品的毛玻璃片(索氏提取法 B)置于索氏提取器中提取,提取时间为4 h,样品液过滤后转移至250 mL容量瓶中,用提取液定容至刻度.

1.3 色谱条件 采用 C₁₈ 色谱柱(Pinnacle II, 4.6 mm × 250 mm, 5 μm),进样体积10 μL,柱温35 ℃,流速1.0 mL/min,流动相 V(甲醇):V(质量分数为0.2%的磷酸水溶液)=47:53,检测波长280 nm,用

收稿日期:2006-01-04.

基金项目:吉林省科技发展计划项目(批准号:20050560)资助.

联系人简介:张寒琦(1948年出生),男,教授,博士生导师,从事光谱化学分析研究. E-mail: analchem@jlu.edu.cn

标准加入法确定峰的归属. 黄芩苷标准品和 5 种样品的 HPLC 色谱图如图 1 所示.

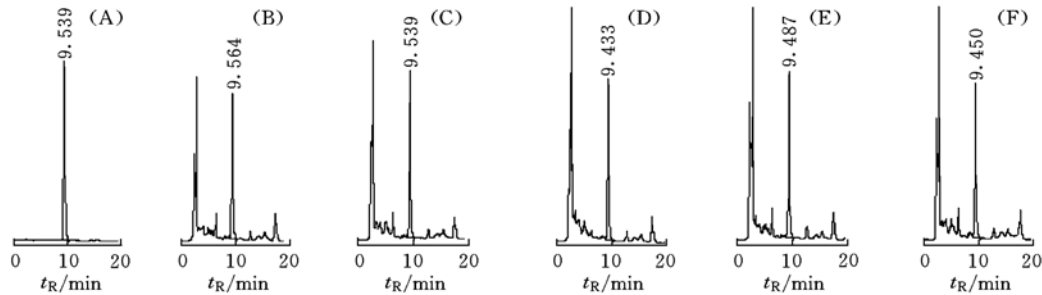


Fig. 1 The chromatograms of standard and samples 1—5

(A) Baicalin standard(0.051 mg/mL); (B) sample 1; (C) sample 2; (D) sample 3; (E) sample 4; (F) sample 5.

2 结果与讨论

2.1 取样方式 毛玻璃表面粗糙, 蜜丸样品很容易粘附在其表面, 每块毛玻璃片均双面涂敷, 样品厚度在 0.5 mm 左右. 将切块法和涂片法得到的提取率进行比较, 发现在同样的提取条件下, 采用涂片法所得提取率明显高于切块法. 收集涂片提取后的残渣进行二次提取, 在提取液中未检测到黄芩苷, 说明第一次提取完全, 而切块法的提取率仅为涂片法的 70% ~ 75%. 用涂片法时样品能够与提取剂充分接触, 故提取率高, 而切块法由于蜜丸粘稠致密, 内部的样品不易与提取剂接触, 提取率较低.

2.2 溶剂的选择 在相同的微波提取条件下, 比较了体积分数为 70% 的乙醇、甲醇和水 3 种提取剂的提取率, 结果表明, 体积分数为 70% 乙醇的提取率最高, 水的提取率最低, 而且有脂类和糖类成分, 后续处理困难, 影响色谱分离检测. 由于甲醇毒性大, 最终选定体积分数为 70% 的乙醇为提取剂.

2.3 微波提取压力的影响 以样品 1 为例, 以黄芩苷提取率为指标, 以 30 mL 体积分数为 70% 的乙醇为提取剂, 时间设定为 1 min, 考察了压力对切块法和涂片法提取率的影响, 实验结果如图 2 所示. 切块法(方法 A)的提取率随着压力的增加而增加, 在 7 kPa 时达到最大值, 以后提取率有所下降. 涂片法(方法 B)的提取率在 3 kPa 时达到最大值, 当压力大于 6 kPa 后, 提取率呈下降的趋势. 提取率在高压下有所下降, 这可能是由于黄芩苷分解所致. 用涂片法提取所得提取率明显高于切块法.

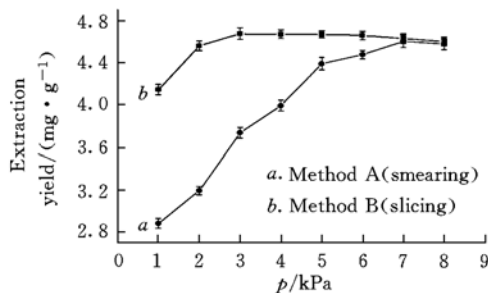


Fig. 2 Influence of pressure on extraction yield

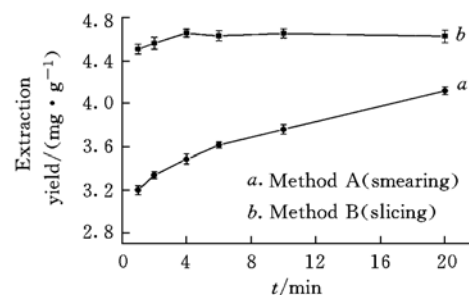


Fig. 3 Influence of time on extraction yield

2.4 微波提取时间的影响 微波提取时间是提取罐达到设定压力后所持续的时间, 并不包括升压过程所消耗的时间. 以样品 1 为例, 压力设定 2 kPa, 以 30 mL 体积分数为 70% 的乙醇为提取剂, 考察了提取时间对切块法和涂片法提取率的影响(图 3). 两种方法的提取率都随时间的增加而增加. 涂片法在 4 min 就达到提取完全, 而用切块法提取 20 min 仍不能提取完全, 涂片法提取率明显高于切块法.

2.5 标准曲线绘制 取一定量黄芩苷对照品配成 0.408 mg/mL 的标准储备液, 将储备液稀释成 0.013, 0.026, 0.051, 0.102 及 0.408 mg/mL 的溶液, 在上述色谱条件下进行测定, 以峰面积(A)为纵坐标, 对照品浓度(c)为横坐标绘制标准曲线, 黄芩苷质量浓度在 0.013 ~ 0.408 mg/mL 范围内线性关系良好. 黄芩苷的检出限为 0.003 mg/mL. 回归方程为: $A = 2.246 \times 10^4 c - 1.278$ ($r = 0.9999$).

2.6 不同提取方法的比较 以样品 1 为例, 微波辅助、超声波和索氏提取法均采用切块(A)和涂片(B)方式进行提取. 结果(表 1)表明, 3 种提取方法中, 涂片法的提取率均高于切块法, 说明前者能有效地使样品与提取液接触, 提高提取率. 索氏提取所需时间较长, 2 种取样方式的提取率相差不大.

2.7 样品分析 采用涂片法提取及高效液相色谱法检测牛黄上清丸中黄芩苷的含量. 平行 3 次. 采用

Table 1 Comparison of different extraction methods

Method	Extraction time/min	Solvent volume/mL	Extraction yield/(mg · g ⁻¹)	Method	Extraction time/min	Solvent volume/mL	Extraction yield/(mg · g ⁻¹)
Microwave A	3	30	3.72	Ultrasonic B	30	30	4.11
Microwave B	3	30	4.63	Sexhlet A	240	150	4.56
Ultrasonic A	30	30	3.64	Sexhlet B	240	150	4.62

加标回收法考察回收率. 准确称取0.5 g 剪碎的样品, 在样品中加入一定量的黄芩苷标准品储备液, 在50 ℃的条件下挥去溶剂, 再将样品全部涂在玻璃片上, 按前述方法进行提取, 结果列于表2.

Table 2 The results of the sample analysis of different factor

Sample	Content/(mg · g ⁻¹)	Added/(mg · g ⁻¹)	Found/(mg · g ⁻¹)	Recovery (%)	RSD(%, n = 3)
1	4.49	3.41	7.81	97.4	3.5
2	4.28	2.79	7.06	99.6	4.2
3	3.70	2.99	6.79	103.3	4.7
4	4.87	2.74	7.62	100.4	2.6
5	3.96	3.06	6.87	95.1	2.9

参 考 文 献

- [1] SUN Xiu-Yan(孙秀燕), LUO Hong(罗虹), LIU Yan(刘岩). Chinese Anal. Lab. (分析实验室)[J], 2004, **23**(8): 41—43
- [2] WANG Rui(王睿), CHEN Xiao-Hui(陈晓辉), YU Zhi-Guo(于治国) *et al.*. Chinese Traditional and Herbal Drug(中草药)[J], 2005, **36**(5): 384—385
- [3] DING Lan(丁兰), LI Yi(李毅), LI Min-Jing(李敏晶) *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2003, **24**(8): 1403—1405
- [4] Criado M. R., Pereiro I. R., Torrijos R. C.. Journal of Chromatography A[J], 2003, **985**: 137—145
- [5] LI Min-Jing(李敏晶), YOU Jing-Yan(游景艳), ZHANG Han-Qi(张寒琦) *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(5): 850—852
- [6] Labbozzetta S., Valvo L., Bertocchi L. *et al.*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis[J], 2005, **39**: 463—468
- [7] Li M. J., You J. Y., Zhang H. Q. *et al.*. Chem. Res. Chinese Universities[J], 2004, **20**(6): 703—706
- [8] Shu Y. Y., Ko M. Y., Chang Y. S.. Microchem. J. [J], 2003, **74**: 131—139
- [9] WANG Zi-Ming(汪子明), ZHOU Xin(周新), ZHANG Han-Qi(张寒琦) *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2005, **26**(9): 1623—1626

High-pressure Microwave-assisted Extraction of Baicalin from Niu Huang Shangqing Pills

WANG Yu-Tang, YU Yong, WANG Zi-Ming, ZHOU Xin, BAI Li-Fei, DING Lan, ZHANG Han-Qi*
(College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract High-pressure microwave extraction was used to extract the baicalin in Niu Huang Shangqing Pills. According to viscosity of honey pills, the sample was painted on the surface of unshaped glass slide, and then the glass slide was placed in extraction vessel and baicalin in the sample was extracted by microwave radiation. High performance liquid chromatograph (HPLC) was used to determine the content of baicalin. The effects of the microwave extraction pressure and time on the extraction yield of baicalin were also examined. The baicalin in Niu Huang Shangqing Pills obtained from five different factories was determined. The results indicate that the microwave extraction of method B (smearing) is obviously superior to the microwave extraction of method A (slicing), ultrasonic extraction and sexhlet extraction. This method proposed in the paper has advantages such as quickness, convenience and high extraction yield.

Keywords Microwave-assisted extraction; Niu Huang Shangqing Pills; High performance liquid chromatography (HPLC); Baicalin (Ed.: A, G)