

· 临床经验 ·

# 复方风柜斗草提取工艺的研究

陈美惠, 刘文雅, 李 黎

〔摘要〕 目的 优选复方风柜斗草的提取工艺。方法 以总黄酮回收率为指标, 采用渗漉法进行正交试验, 考察乙醇浓度、药材粉碎度、渗漉流速、接收的液量倍数等因素对提取复方风柜斗草中总黄酮的影响。结果 最佳提取工艺为 70% 乙醇、细粉、流速 4.5 mL/min、收集药材 18 倍量渗漉液。结论 该提取工艺合理、可行, 可为提取复方风柜斗草有效成分提供理论依据。

〔关键词〕 风柜斗草; 向天盏; 总黄酮; 渗漉法; 正交试验

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标志码〕 B doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2014.04.026

风柜斗草又名肉穗草、风鼓斗草, 来源于野牡丹科植物肉穗草属楮头红 (*Sarcopyramis nepalensis* Wall) 的全草, 主要分布于我国福建、广东、台湾等地<sup>[1]</sup>, 其性平、味甘, 具有凉热解毒、凉血利水、去肝火、清肺热的功效, 用于急性肝炎、肺热咳嗽、风湿痹痛、耳鸣耳聋及目雾羞明等治疗<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明, 风柜斗草全草含黄酮类成分<sup>[3]</sup>, 其提取物具有清除自由基、抗小鼠肝脂质过氧化、抗小鼠肝损伤及抑菌作用<sup>[4-5]</sup>。向天盏 (*Scutellaria indica* L.) 又名韩信草、大力草、耳挖草 [《生草药性备要》]、金茶匙 [《本草求原》]、顺经草 (贵州)、大叶半枝莲 (广西)、虎咬癍 (福建), 为唇形科植物向天盏的全草, 入药首见于《生草药性备要》。原植物为多年生草本, 主要分布于江南各省区, 北达河南及陕西, 其味辛、微苦、性凉, 归肺、肝经, 药材地上部分含有黄酮类成分<sup>[6]</sup>。本实验以总黄酮含量为指标, 通过单因素试验比较水煎法、回流法和渗漉法对复方风柜斗草中有效成分含量的影响, 筛选最佳提取方法, 并通过正交试验优选该制剂的提取工艺。

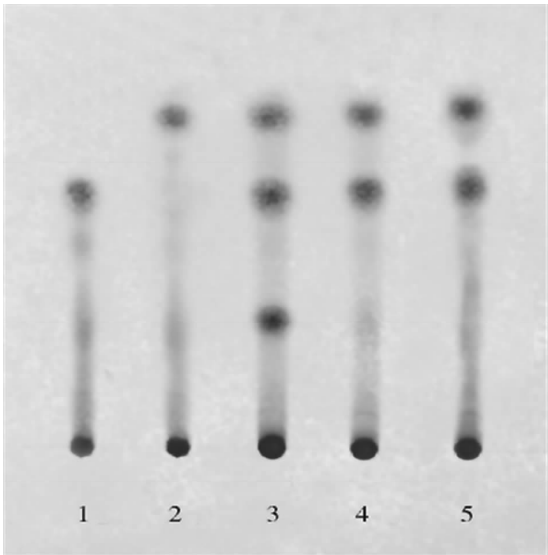
## 1 材料与仪器

1.1 材料 风柜斗草 (福建南靖, 批号 1207270), 向天盏 (福建南靖, 批号 130901), 以上两药购于福建省漳州片仔癀国药堂医药连锁有限公司; 芦丁对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 10080-200707)、槲皮素对照品 (南京景竹生物科技有限公司, 批号 100080-200809), 均购于中国药品生物制品检定所; 95% 乙醇、正丁醇、甲醇、硝酸铝、氢氧化钠等试剂均为分析纯级。

1.2 仪器 电子天平 FA2004N (上海精密科学仪器有限公司), 紫外分光光度计 (棱光) UN754N (上海精密科学仪器有限公司), 旋转蒸发仪 GG17 (上海申生科技有限公司)。

## 2 方 法

2.1 化学成分的确 文献报道风柜斗草和向天盏均有黄酮类成分, 经薄层层析试验也证明确有黄酮类成分。风柜斗草、向天盏及两者混合物分别用 70% 乙醇提取, 提取液加热回收乙醇, 浓缩液加适量水用正丁醇萃取, 正丁醇液挥去溶剂, 残渣甲醇溶解供点样用。以芦丁、槲皮素作对照, 用硅胶 CMCNa 板, 正丁醇-醋酸-水 (4:1:1) 为展开剂, UV365nm 紫外灯下显黄色荧光斑点, 样品中有与对照品相应的斑点, 见图 1。



1: 芦丁; 2: 槲皮素; 3: 混合物; 4: 向天盏; 5: 风柜斗草

图 1 薄层层析图谱

**2.2 提取方法的确定** 根据处方比例称取风柜斗草和向天盏药材粗粉混合均匀分为三份,分别用水煎法、回流法和渗漉法提取,并测定总黄酮含量。

**2.2.1 水煎法** 药材加水煎煮 2 次,每次 2 h,水煎液浓缩至药液比为 1:1 时,加 2 倍量乙醇搅拌放置过夜,滤过,滤液回收乙醇,浓缩液加适量水用正丁醇萃取,萃取液回收溶剂,残渣用 60% 乙醇溶解制成供试液。

**2.2.2 回流法** 药材以 70% 乙醇为溶剂,回流提取 2 次,每次 2 h,提取液合并,回收乙醇,浓缩液同 2.2.1 法用正丁醇萃取,制备供试液。

**2.2.3 渗漉法** 药材以 70% 乙醇为溶剂,用渗漉法提取,收集提取液为药材的 18 倍量,回收乙醇浓缩液同 2.2.1 法用正丁醇萃取,制备供试液。

**2.2.4 总黄酮测定** 精密称取干燥的芦丁对照品 5 mg 于 10 mL 量瓶中,用 60% 的乙醇溶解,定容至刻度,摇匀,制成 0.5 mg/mL 的芦丁对照液。精取对照液和供试液各 2 mL,置 25 mL 容量瓶中,各加水 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL 摇匀,放置 6 min,加 4% 氢氧化钠试液 10 mL 摇匀,加水至刻度,放置 15 min,以相应试剂作空白,500 nm 波长处测定吸光度。

**2.3 提取方法的优化<sup>[7-8]</sup>** 对渗漉法提取条件进行优化,选择最佳工艺,采用四因素三水平的正交试验法设计,四因素分别是乙醇的浓度、药材的粗细度、渗漉法的流速和接收液的量,各设三个水平见表 1。试验分 9 组,按  $L_9(3^4)$  正交设计表条件进行 9 次渗漉法提取,每组按照 2:1 投料,取风柜斗草 10 g、向天盏 20 g,各组提取液,分别回收乙醇,浓缩液加适量水,用正丁醇萃取,萃取液回收溶剂,残渣用 60% 乙醇溶解并定容至 100 mL,取 2 mL 按 2.2.4 法测定总黄酮含量。

表 1 正交试验因素水平表

水平	A 乙醇浓度(%)	B 粉碎度	C 流速(mL/min)	D 接收倍数
1	80	粗	1.5	13
2	70	中	3.0	15
3	60	细	4.5	18

**2.4 数据处理方法** 以正交试验的方差分析表分析所得数据。

3 结果

**3.1 不同提取方法对有效成分回收率的影响** 水

煎法、回流法、渗漉法考察不同提取方法测得复方风柜斗草中总黄酮成分的回收率分别是 2.04%、2.68%、3.44%。

**3.2 渗漉法提取工艺正交试验结果** 见表 2、表 3。

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	总黄酮(%)
1	1	1	1	1	1.92
2	1	2	2	2	4.93
3	1	3	3	3	7.32
4	2	1	2	3	2.80
5	2	2	3	1	5.02
6	2	3	1	2	6.57
7	3	1	3	2	2.63
8	3	2	1	3	4.61
9	3	3	2	1	4.98
K1	14.17	7.35	13.10	11.92	
K2	14.39	14.56	12.71	14.13	
K3	12.22	18.87	14.97	14.73	
R	2.17	11.52	2.26	2.81	

表 3 总黄酮正交试验方差分析表

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	0.951	2	0.476	1.000	
B	22.586	2	11.293	23.747	<0.05
C(误差)	0.973	2	0.486	1.023	
D	1.460	2	0.730	1.535	

注: $F_{0.05(2,2)}=19.00$

4 讨论

通过水煎法、回流法、渗漉法考察不同提取方法对复方风柜斗草中总黄酮成分回收率的影响,结果表明以渗漉法的回收率较高,故选用此法。渗漉法提取属于动态浸出方法,有效成分浸出完全,溶剂利用率高,适用于贵重药材、毒性药材的提取。与水煎法、回流法提取相比,渗漉法提取不需要加热,可以有效地防止加热过程对活性成分的破坏<sup>[9-10]</sup>。

采用四因素三水平的正交试验法对渗漉法提取条件进行优化,从表 2、表 3 可知,影响总黄酮提取因素的大小顺序为药材粗细度>接收渗漉液量>渗漉液流速>乙醇浓度。其中,药材粗细度对提取工艺的影响差异显著,最佳渗漉提取工艺为  $A_2B_3C_3D_3$ ,即用 70% 乙醇、细粉、流速 4.5 mL/min,接收 18 倍渗漉液体积为最佳渗漉提取条件。此法

(下转第 426 页)

毛细血管床减少;呼吸道黏膜萎缩、纤毛上皮运动减弱、气道屏障功能减退,是易感人群。老年人机体反应性差,肺泡炎症渗出不明显,而以肺间质及毛细血管的炎症为主。因此,老年肺部感染的发病率和病死率也呈上升趋势。

**3.2 并存或继发基础疾病因素** 老年人基础性疾病较多,如糖尿病、肺结核、高血压病、脑血管意外、慢阻肺疾病、冠心病等。当肺部感染症状与基础疾病症状混在一起时,往往掩盖了肺部感染的临床表现,这是与其他人肺部感染区别的重要特点之一。老年肺炎发病率大约是青年人的 10 倍,常被漏诊和误诊为其他疾病,病情进展较快,易并发感染性休克,呼吸衰竭,心力衰竭,水电质紊乱和酸碱平衡失调。脑血管后遗症及骨折长期卧床是老年肺部感染的危险因素,老年人长期住院也增加了医院获得性肺部感染的风险。另外,老年人肺大泡与肺部感染常并存,这也给治疗增加了一定难度。

**3.3 细菌耐药性因素** 老年肺部感染大部分是由革兰阴性杆菌感染引起,而老年人真正的肺部真菌感染检出率很低。临床大部分痰检真菌生长者,均为大量长期应用抗生素引起的二重感染,细菌耐药多见。长期使用抗生素又容易引起纳差、腹泻等消化道症状,导致营养不良,反过来机体抵抗力下降。老年肺部感染以混合感染多见。因此,在应用抗生素治疗时,应早期、足量、联合、适当延长疗程,并注意真菌感染,厌氧菌感染。

总之,老年肺部感染症状、体征有的不典型,治

愈率低。因此,应重视健康宣教。对于老年人的非特异性临床表现应予重视,并进行必要的辅助检查,如 X 线胸片和细菌学培养,可有助于老年肺部感染的确诊,以免延误早期治疗,加重病情。随着社会的老齡化,老年人群渐增多,应重视老年人肺炎的早期诊断和及时治疗,以利改善其预后,降低病死率。

#### 【参考文献】

- [1] 范利,王士雯. 肺部感染与老年人多器官衰竭[J]. 中华老年医学杂志,1989,8(1):25.
- [2] 高玉梅. 浅析老年人肺部感染的临床特点及治疗[J]. 中华现代内科学杂志,2006,3(12):1383.
- [3] 张爱红,孙素芹,刘阳,等. 肠道菌群失调与广谱抗生素应用的相关性分析[J]. 华北煤炭医学院学报,2006,8(5):619-620.
- [4] 陈文彬,梁宗安,程德云. 特美汀治疗慢性阻塞性肺病和肺心病下呼吸道感染的疗效观察[J]. 中国实用内科杂志,1995,15(2):96-97.
- [5] 戴丽,曲晓华,李真,等. 亚胺培南和环丙沙星治疗耐头孢他啶阴性菌下呼吸道感染[J]. 中国抗生素杂志,1997,22(5):359.
- [6] 朱荣达. 老年人肺部感染的难治因素[J]. 海军总医院院刊,1994,7(3):122.
- [7] 顾玉旗,刘宝勤. 老年人肺部感染 305 例临床分析[J]. 中原医刊,2004,3(8):33-34.
- [8] 丁进亚,李曙平,蔡克银,等. 老年患者呼吸道真菌感染相关因素分析[J]. 华南国防医学杂志,2004,18(6):53-56.

(收稿日期:2014-04-02;修回日期:2014-05-12)

(本文编辑:黄攸生)

(上接第 415 页)

合理、可行,可为提取复方风柜斗草的有效成分提供参考。

#### 【参考文献】

- [1] 卢伟,曾楷炜. 楮头红的性状及显微鉴别[J]. 福建中医学院学报,2008,18(5):36-38.
- [2] 陈桂菲,叶淑玲. 风柜斗草药用探讨[J]. 时珍国医国药,2000,11(2):129-130.
- [3] 吴水华,陈文娟. 风柜斗草中总黄酮超声提取工艺的研究[J]. 海峡药学杂志,2010,22(6):32-33.
- [4] 李清禄,陈强,何海斌,等. 楮头红提取物的生物活性研究[J]. 中国药学杂志,2007,42(17):1292-1295.
- [5] 万春鹏,郑嘯,陈海峰,等. 东方肉穗草黄酮类化学成分研究

[J]. 中国中药杂志,2009,34(2):172-174.

- [6] 宋立人,洪恂,丁绪亮,等. 现代中药学大辞典上册[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:867.
- [7] 谢彦兵,肖红兵. 正交设计法对大豆中提取异黄酮的工艺研究[J]. 东南国防医药,2011,13(1):54-56.
- [8] 陈艳,许茜,许景峰,等. 正交设计优化姜香脐贴中木香醇提工艺[J]. 东南国防医药,2010,12(1):39-41.
- [9] 秦婷,李平,郭金甲,等. 正交试验法优选马钱子渗漉提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(22):44-46.
- [10] 刘绍华,覃青云,方堃,等. 渗漉法提取两面针活性成分工艺的研究[J]. 中草药,2006,37(3):373-375.

(收稿日期:2014-04-10;修回日期:2014-05-22)

(本文编辑:张仲书)