

地榆鞣质提取工艺及吸湿性的研究[△]

雷志丹*, 夏新华, 杨建伟, 廖琼, 徐一, 雷志钧[#](湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

中图分类号 R283;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)01-0093-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.01.30

摘要 目的:筛选地榆中鞣质的提取工艺并研究其吸湿性,为后续制剂的研究提供参考。方法:以料液比、提取溶剂丙酮的浓度、提取次数为考察因素,以鞣质(没食子酸)含量为指标设计正交试验并进行验证试验;测定鞣质吸湿百分率及临界相对湿度(CRH)。结果:料液比为1:15、丙酮体积分数为70%、超声提取2次时鞣质含量最高,验证试验3次的鞣质含量平均值为13.98%(RSD=1.19%,n=3);鞣质在氯化钠饱和溶液(相对湿度75%)的条件下在9h左右达到吸湿平衡,CRH为66%。结论:本提取工艺稳定,所得鞣质含量较高,但其在室温下有一定的吸湿性。本试验可为后续的产品开发与制剂研制提供基础。

关键词 地榆;鞣质;正交试验;提取工艺;吸湿性

Extraction Technology and Hygroscopicity of Tannins from *Radix Sanguisorbae*

LEI Zhi-dan, XIA Xin-hua, YANG Jian-wei, LIAO Qiong, XU Yi, LEI Zhi-jun (School of Pharmacy, Hunan University of TCM, Changsha 410208, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To screen extraction process and hygroscopicity of tannins from *Radix Sanguisorbae*, and to provide reference for the further study of the preparations. METHODS: The extraction technology of tannins from *Radix Sanguisorbae* was optimized by orthogonal test with solid-liquid ratio, acetone concentration and extraction times as factors using the content of gallic acid as index. The optimized technology was validated. Moisture rate and critical relative moisture (CRH) of tannins were determined. RESULTS: The optimal technology was as follows: solid-liquid ratio of 1:15, acetone concentration of 70%, ultrasonic extracting for 2 times; the content of tannins was the highest under above conditions. The average value of 3 times of validation tests was 13.98% (RSD=1.19%, n=3). When the relative humidity of saturated solution of sodium chloride was kept at 75%, moisture sorption equilibrium of tannins was obtained about 9 h; and CRH was 66%. CONCLUSIONS: The optimized technology is stable, and tannins have high content and show certain hygroscopicity. The study provides basis for further the development of products and research of the preparations.

KEYWORDS *Radix Sanguisorbae*; Tannin; Orthogonal test; Extraction technology; Hygroscopicity

地榆(学名:*Radix Sanguisorbae*)为蔷薇科地榆属植物,分布在亚洲北温带,广布于欧洲以及中国,生长于海拔30米至3000米的地区,常生于灌丛中、山坡草地、草原、草甸及疏林下,已有人工引种栽培^[1]。

鞣质又称单宁,是广泛存在于植物界的一类结构比较复杂的多酚类化合物,分子质量在500~3000间,能沉淀生物碱、蛋白质;鞣质按化学结构可分为水解鞣质、缩合鞣质及复合鞣质。地榆为止血良药,主要成分为鞣质。有研究表明,地榆鞣质不仅能收缩血管、缩短凝血时间^[2],而且在抗肿瘤、抗免疫缺陷病、心血管病和改善肝肾功能等方面也有较好疗效^[3-4]。为有效利用该药材的药用价值,笔者首先对地榆鞣质的提取工艺和吸湿性进行了研究,以为其后续研究提供有效的实验基础。

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30973955/H2806);国家中医药管理局“中药制剂学”重点学科资助项目(No.国中医药发[2009]30号);湖南省中药学重点学科(No.湘教通[2011]76号)

* 副教授,硕士。研究方向:中药制剂与新剂型。E-mail:leizhidan99@163.com

通信作者:副教授,硕士。研究方向:中药新制剂与新技术。E-mail:lzj-707@163.com

1 材料

1.1 仪器

高速粉碎机(武义县屹立工具有限公司);KQ-100DE超声波提取仪(昆山市超声仪器有限公司);RE-52C旋转蒸发仪(巩义市予华仪器有限公司);三用恒温箱(金坛市神科仪器厂);电热恒温鼓风干燥器、干燥器、计湿器、SHH-150L生化培养箱(重庆四达实验仪器有限公司)。

1.2 药材与试剂

地榆(产地:山西,由湖南中医药大学周日宝教授鉴定为真品,标本存于湖南中医药大学药学技能中心实验室,批号:20100407);没食子酸标准品(中国食品药品检定研究院,纯度:>99%);醋酸锌标准品(西陇化工股份有限公司,批号:20010406,分析纯);乙二胺四乙酸(EDTA)、丙酮、无水乙醇、乙酸乙酯、硫酸、碳酸钾、乙酸钾、溴化钠、氯化镁、氯化钠、氯化钾、硝酸钾等所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 地榆鞣质的提取工艺筛选

2.1.1 鞣质的一般提取流程^[5]。选择一定浓度的丙酮溶液对定量地榆药材饮片进行超声提取,得滤液,回收丙酮后加乙醇除去杂质,减压回收乙醇得鞣质水溶液。根据文献^[6]确定超声

温度为45℃、回收丙酮温度为45℃、回收乙醇温度为55℃。
2.1.2 鞣质的含量测定方法^[7]。取上述鞣质水溶液于(37±1)℃水浴温热15 min。精密量取1 mol/L醋酸锌溶液10 ml置于200 ml量瓶中,加足量浓氨水,摇匀使白色沉淀溶解。将已温热的浸提取液转入上述含醋酸锌量瓶中,并不断摇匀,加毕后继续振摇1 min,置于(37±1)℃水浴继续温热30 min(间歇振摇数次),冷却至室温,加蒸馏水至200 ml定容,以干滤纸过滤。精密量取续滤液10 ml,加铬黑T指示剂4滴,以0.05 mol/L EDTA滴定液滴定,溶液由紫红色变为蓝色即为终点,按下式^[8]计算结果:

$$\text{鞣质}(\%) = 0.1556 \times (V_{Zn} \times c_{Zn} - 20 \times V_{EDTA} \times c_{EDTA}) / W \times 100\%$$

式中,0.1556是络合量法的参量因素的平均值; V_{Zn} 为量取的醋酸锌标准溶液的体积(ml); c_{Zn} 为醋酸锌标准溶液的浓度(mol/L); V_{EDTA} 为滴定消耗的EDTA滴定液的体积(ml); c_{EDTA} 为EDTA滴定液的浓度(mol/L); W 为样品质量(即药材的取样量,g)。

取同一批提取物按上述方法测定6次,结果鞣质平均含量为10.09%(RSD=1.5%, $n=6$),表明本法精密度较好。

取同一批提取物溶液,精密加入没食子酸标准品,按上述方法进行测定,计算回收率,结果平均回收率为100.3%(RSD=2.7%, $n=5$),表明本法准确度较好。

2.1.3 正交试验。由于鞣质的提取率受到溶剂的体积分数、料液比(地榆药材量与丙酮之比)、提取次数等多种因素交叉影响^[9],故在设计正交试验考察各因素时,选用料液比为因素A、提取溶剂丙酮体积分数为因素B、提取次数为因素C,因素水平见表1;采用 $L_9(3^4)$ 正交表^[10],每次称取地榆10 g,以鞣质含量为评价指标,按表2安排试验;方差分析见表3。

表1 因素水平表

Tab 1 Factors and levels

水平	A(料液比)	B(丙酮体积分数,%)	C(提取次数)
1	1:5	30	1
2	1:10	50	2
3	1:15	70	3

表2 正交试验设计及结果

Tab 2 Result of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	鞣质含量, %
1	1	1	1	1	6.82
2	1	2	2	2	9.88
3	1	3	3	3	11.57
4	2	1	2	3	10.03
5	2	2	3	1	11.49
6	2	3	1	2	9.80
7	3	1	3	2	12.49
8	3	2	1	3	10.02
9	3	3	2	1	12.14
K_1	28.27	29.34	26.64	30.45	
K_2	31.32	31.39	32.05	32.17	
K_3	34.65	33.51	35.55	31.62	
R	2.13	1.39	2.97	0.57	
SS	6.79	2.90	13.43	0.51	

由上表可知,各因素的主次依次为C、A、B,预测最佳试验方案为 $A_3B_3C_3$;结合实际情况,B因素选取 B_2 ,以减少有机溶剂丙酮的用量,经济又环保;C因素取 C_2 ,虽然提取3次较提取2次时提取液中鞣质的含量更高,但增加的量不太显著,而且能

表3 方差分析表

Tab 3 Analysis of variance

来源	自由度	离均差平方和	方差	F	P	结论
总和	8	23.63				
A	2	6.79	3.40	13.08	<0.005	重要因素
B	2	2.90	1.45	5.58	<0.05	次要因素
C	2	13.43	6.62	25.85	<0.005	主要因素
误差	2	0.51	0.26			

耗也相应增加,为了提高提取效率,缩短生产周期,故最终提取次数选择2次。由此得最佳试验方案为 $A_3B_2C_2$,即采用1:15的料液比,50%的丙酮为提取溶剂,超声提取2次。

2.1.4 验证试验。选择上述最佳提取工艺,进行3批重复试验验证。结果所得地榆提取液中鞣质平均含量为13.98%(RSD=1.19%, $n=3$),表明优选的提取工艺稳定、可行。

2.2 地榆鞣质的吸湿性研究

2.2.1 饱和溶液的配制。根据室温下54.5%硫酸、44%硫酸、硫酸钾、乙酸钾、溴化钠、氯化钠、氯化钾、硝酸钾的溶解度,取适量配成一定湿度的饱和溶液。

2.2.2 吸湿百分率的测定^[11]。取适量硅胶干燥器中干燥的地榆鞣质粉末,置于底部盛有氯化钠饱和溶液的玻璃干燥器中,放入25℃的恒温培养箱内恒温24 h,此时干燥器内的相对湿度为75%。在已恒质量的称量瓶底部放入可以覆盖完底部的鞣质粉末,准确称质量后置于上述玻璃干燥器内(称量瓶盖打开),于25℃保存,定时称质量,计算吸湿百分率[吸湿率(%)=(吸湿后药粉质量-吸湿前药粉质量)/吸湿前药粉质量×100%]。结果,0、2、4、6、9、24、36、48、60、84 h时的吸湿百分率分别为0、7.37%、10.22%、12.19%、12.20%、12.19%、12.19%、12.20%、12.70%、12.95%。以吸湿百分率(%)为纵坐标、时间(h)为横坐标作图,结果见图1。

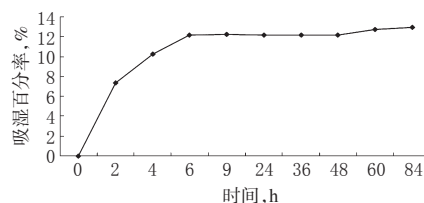


图1 地榆鞣质粉末在不同时间的吸湿百分率

Fig 1 The moisture rate of *Radix sanguisorbae* tannins powder in different time

由图1可以看出,在氯化钠饱和溶液、相对湿度75%条件下,地榆鞣质粉末在第9小时左右基本达到吸湿平衡。

2.2.3 临界相对湿度(CRH)的测定^[12]。取适量硅胶干燥器中干燥的地榆鞣质粉末,在已恒质量的称量瓶底部放入可以覆盖底部的鞣质粉末,准确称质量后置于分别装有8种不同饱和溶液的玻璃干燥器内(称量瓶盖打开),于25℃保存,定时称质量,计算吸湿百分率;以环境湿度(%)为纵坐标,吸收率为横坐标作图,结果见表4、图2。

表4 地榆鞣质粉末在不同湿度条件下的吸湿百分率

Tab 4 The moisture rate of *Radix sanguisorbae* tannins powder under different humidity conditions

指标	乙酸钾	54.5%硫酸	44%硫酸	硫酸钾	溴化钠	氯化钠	氯化钾	硝酸钾
湿度, %	22.45	32.00	40.50	42.76	57.70	75.28	84.26	92.48
吸湿百分率, %	0.698 3	0.698 3	1.248	1.248	1.248	13.75	17.55	20.48

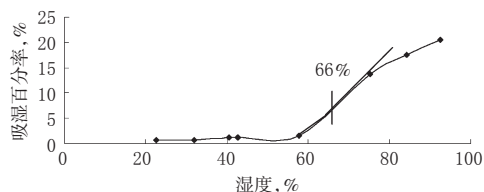


图2 地榆鞣质粉末的临界相对湿度

Fig 2 CRH of *Radix sanguisorbae* tannins powder

作曲线两端的切线,两切线交点对应的横坐标位置点即为CRH^[13]。由此得地榆鞣质干粉的CRH约为66%,可知鞣质有一定的吸湿性。

3 讨论

(1)中草药中鞣质含量测定方法较多,根据鞣质性质有皮粉吸附法、高锰酸钾法、比色法,这些方法各有优缺点^[14]。本文采用络合滴定法来测定鞣质含量,是利用鞣质分子中多个邻位羟基可作为多基配体与1个中心离子络合形成环状螯合物,在不同pH值下发生沉淀的性质,然后通过EDTA反滴定过量金属离子来确定鞣质含量。络合滴定法准确度和精密度都高,而且终点也比较清晰明显,多用于原料药的含量测定。但需要注意的是鞣质易氧化、不稳定,所以要尽量控制实验环境与储藏温度,操作时选用棕色瓶且应避光。

(2)在选择提取溶剂的最佳体积分数时,70%的丙酮提取的鞣质含量最高,但考虑到鞣质中有机溶剂的含量不宜过高,故确定丙酮体积分数为50%。

(3)在进行鞣质的吸湿性试验时,鞣质粉末的干燥程度对试验结果有影响,所以应保证鞣质粉末的绝对干燥。

(4)对于水溶性药物,其CRH越小则越易吸湿;反之则不易吸湿,地榆鞣质的CRH为66%,有一定的吸湿性,故以地榆为原料制成固体制剂时,需要考虑该药材主要成分吸湿性的特点,做好防潮的相关措施。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:211.
- [2] 姜贵全,方桂珍.地榆中药用活性成分提取工艺及稳定性研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2005:5-6.
- [3] 夏红旻,孙立立,孙敬勇,等.地榆化学成分及药理活性研究进展[J].食品与药品,2009,11(7):67.
- [4] 戴衍朋,周倩,石典花,等.炮制对地榆中鞣质和没食子酸的影响[C]//武汉:中华中医药学会中药炮制分会2009年学术研讨会论文集,2009:457-459.
- [5] 郭增军,孙启时,龙丽辉.九牛造中总鞣质提取方法和没食子酸含量测定研究[J].中药材,2007,30(11):1398.
- [6] 雷志丹,夏新华,雷志钧,等.以五倍子为原料摸索提取“乙肝宁”中鞣质提取方案[J].中国当代医药,2012,19(5):10.
- [7] 朱琼,包同贝.鸡冠花炭饮片中鞣质的含量测定[J].南京中医药大学学报,2010,26(1):62.
- [8] 江发寿,赵继红,但建明,等.沙枣鞣质的含量测定[J].基层中药杂志,2002,16(2):25.
- [9] 沈红霞,周本宏.正交设计优选石榴皮鞣质的提取工艺[J].中国现代中药,2008,10(4):21.
- [10] 李丹,金哲雄.核桃仁中鞣质成分的提取工艺研究[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学药学院,2011:1-2.
- [11] 彭淑娟,王亚静,田慧,等.番泻叶提取物的吸湿性及辅料对其影响的研究[J].中国药房,2012,23(3):225.
- [12] 杜若飞,冯怡,刘怡,等.中药提取物吸湿特性的数据分析与表征[J].中成药,2008,30(12):1767.
- [13] 何燕,罗建春,聂金媛.处方工艺对全浸膏胶囊吸湿性与装量的影响[J].时珍国医国药,2009,20(6):1498.
- [14] 雷志钧,夏新华,张婷,等.虎杖总鞣质的提取工艺优选及吸湿性考察[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(16):30.

(收稿日期:2014-02-10 修回日期:2014-11-04)

(编辑:刘 萍)

贯彻国务院艾滋病防治工作部署会议在北京召开

本刊讯 2014年12月4日,国务院防治艾滋病工作委员会(以下简称“国务院防艾委”)办公室组织召开贯彻国务院艾滋病防治工作部署会议。会议传达学习了李克强总理关于艾滋病防治工作的重要指示和国务院防艾委第二次全体会议精神,通报了全国艾滋病总体疫情和“十二五”行动计划实施进展,研究贯彻落实国务院关于艾滋病防治工作部署的具体措施。国家卫生计生委副主任、国家中医药局局长、国务院防艾委办公室主任王国强出席会议并讲话。

王国强同志指出,李克强总理关于艾滋病防治工作的重要指示和国务院防艾委第二次全体会议刘延东副总理讲话指明了我国当前和今后一个时期艾滋病防治工作的方向。与会部门的同志要认真学习,深刻领会精神实质,充分认识艾滋病防治工作重要性、紧迫性和复杂性,将思想认识统一到国务院领导同志重要指示上来,把防治工作统一到国务院防艾委会议部署上来。

王国强同志强调,要明确责任部门、时间进度和具体要求,各司其职,各负其责,扎扎实实把国务院艾滋病防治工作的决策部署落实好。要针对“十二五”行动计划的要求,持续加大控制经性途径传播工作力度,突出重点地区、重点人群的防控,继续完善艾滋病防治的保障政策。要做好督导检查 and “回头看”,打通落实的“最后一公里”,确保如期实现“十二五”防治目标,同时要认真做好“十二五”规划终期评估和“十三五”规划编制工作。

王国强同志要求,要进一步加强部门合作,形成齐抓共管、综合治理的艾滋病防治格局。国务院防艾委办公室要做好与各部门的沟通与协调服务,定期通报国务院部署任务的落实进展,加强督促检查,及时将有关落实情况上报国务院。

国务院防艾委成员单位有关部门同志,全国人大常委会工委、外交部、商务部、国家知识产权局、最高人民法院有关部门同志参加了会议。