

正交试验优化复方枳参胶囊处方药材的提取工艺

阙慧卿, 林 绥*, 邓思珊, 钱丽萍, 郭舜民, 齐一萍

(福建省医学科学研究所 福建省医学测试重点实验室, 福建 福州 350001)

摘要: 目的 研究影响复方枳参胶囊提取效果的各种因素, 确定最佳提取工艺。**方法** 采用正交试验设计, 以浸膏收率和槲皮素提取率为指标, 考察回流提取时间(A)、乙醇体积分数(B)、提取次数(C)和乙醇用量[乙醇体积(mL)/药材量(g), D]4个因素对提取效果的影响, 优选出复方枳参胶囊的提取工艺。**结果** 在所考察的4个因素中, 对复方枳参胶囊提取效果的影响程度依次为: B>D>C>A, 即乙醇体积分数>乙醇用量>提取次数>回流提取时间, 确定出最佳提取工艺为 B₂D₃C₂A₃, 即10倍于药材量(g)的70%乙醇(mL), 回流提取2次, 每次2h为最佳提取工艺。**结论** 本实验优选出的提取工艺适用于复方枳参胶囊的提取。

关键词: 复方枳参胶囊; 槲皮素; 正交试验; 提取工艺; 高效液相色谱

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)06-0457-03

Optimization of extract technique of Fufang Zhishen Capsule through orthogonal experiment

QUE Hui-qing, LIN Sui, DENG Si-shan, QIAN Li-ping, GUO Shun-min, QI Yi-ping

(Fujian Institute of Medical Sciences, The Key Laboratory of Medical Measurement of Fujian Province, Fuzhou 350001, China)

Abstract: Objective To determine the best extraction technique by studying the different factors that might affect the extraction of Fufang Zhishen Capsules. **Methods** The orthogonality experiment was adopted in the study. Extraction rate of quercetin and the extractum rate were taken as indices. The effects of four factors on the extraction were studied, including reflux extraction time(A), volume grade of alcohol(B), extraction times(C), and alcohol volume(D) which was calculated by alcohol volume(mL) divided by the amount of materials(g). On the basis of the study on the four factors, the extraction technique was optimized. **Results** The effects of the four factors were listed as follows: B>D>C>A. The best extraction technique was described as B₂D₃C₂A₃. The amount of 70% alcohol was 10 times of the medicinal materials. There were total 2 times of reflux extraction with 2 hour in each time. **Conclusion** The optimized technique is suitable to the extraction of Fufang Zhishen Capsule.

Key word: Fufang Zhishen Capsule; quercetin; orthogonal experiment; extract technology; HPLC

复方枳参胶囊是由枳椇子、葛根、人参、五味子等8味中药组成的经验方, 为福建省医学科学研究所内部制剂, 具有明显的保肝作用, 能够抑制酒精在肝脏的吸收, 可用于醒酒及辅助治疗化学性肝损伤。该方以枳椇子为君药, 枳椇子系鼠李科植物枳椇 *Hovenia acerba* Lindl.、北枳椇 *H. dulcis* Thunb.、毛果枳椇 *H. trichocarpa* Chun et Tsiang 的干燥成熟带肉质果实及种子, 具有止渴除烦、解酒毒、利尿之功效, 用于醉酒、烦热、口渴、呕吐、二便不

利等^[1-2]。张会香等^[3]报道, 枳椇子醇提取液具有一定的解酒作用。为了保证该胶囊的质量, 使其发挥最大功效, 本实验以浸膏收率和君药枳椇子中的黄酮类化合物槲皮素提取率^[4]为考察指标, 采用正交试验设计优选该方的最佳提取工艺条件, 为制定复方枳参胶囊的质量标准提供依据。

1 仪器与材料

美国惠普 1100 型高效液相色谱仪、旋转蒸发仪

基金项目 福建省省属科研院所公益类基本科研专项(2009R10017-4)

* 通讯作者 林 绥, Tel: 13605948318, E-mail: linsui_syy@sina.com.cn.

(上海申生科技有限公司)、AL 204 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]、DHG—9070 型电热恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

复方枳参胶囊所含 8 味中药的饮片均由福州市药材公司提供,其中枳椇子批号为 051231。槲皮素对照品购自中国药品生物制品检定所,批号 100081-200406。

甲醇、乙腈为色谱纯,水为蒸馏水,乙醇等其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确定与实验设计^[5]

胶囊处方中各味药所含功能因子皆易溶于热醇,且据预试验结果可知,75%乙醇提取所得的浸膏量多于水提取的,槲皮素提取率也高于水提取的,因此本研究采用正交试验设计,以浸膏收率和槲皮素提取率为考察指标,以回流提取时间(A)、乙醇体积分数(B)、提取次数(C)和乙醇用量[乙醇体积(mL)/药材量(g),D]为因素,选用 $L_9(3^4)$ 正交表来安排试验。实验所选因素及水平见表 1,正交试验结果及其直观分析见表 2。

表 1 因素水平表

水平	因素			
	A/h	B/%	C/次	D/(mL·g ⁻¹)
1	1	50	1	6
2	1.5	70	2	8
3	2	90	3	10

2.2 浸膏的制备

按处方比例称取枳椇子、葛根、人参、五味子等 8 味药材共 90 g,按表 2 条件进行回流提取,所得滤液回收乙醇,减压干燥至恒定质量,得浸膏,称定,计算浸膏收率。

2.3 槲皮素提取率的测定^[6-7]

2.3.1 色谱条件

Ultimate C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-磷酸溶液(35:65),检测波长 256 nm,体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 °C,进样量 20 μL;理论塔板数按槲皮素峰计算不低于 2 500。在该条件下槲皮素与其他组分均能达到基线分离,缺枳椇子的阴性对照品在槲皮素色谱峰的保留时间处无干扰。

2.3.2 对照品溶液的制备

精密称取干燥至恒定质量的槲皮素对照品 12.5 mg 置于 50 mL 量瓶中,50%甲醇定容,得质量浓

度为 250 μg/mL 的槲皮素对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备

取 1 g 浸膏,精密称定,与 30 g 氧化铝混合均匀,在索氏提取器中用醋酸乙酯回流提取 2 h;回收醋酸乙酯并挥干溶剂,残渣用 50%甲醇溶解后转移至 50 mL 量瓶中,50%甲醇定容至刻度;精密吸取 1 mL 转移至 15 mL 量瓶中,50%甲醇定容至刻度;0.45 μm 微孔滤膜滤过,待用。

2.3.4 线性关系考察

精密吸取槲皮素对照品溶液适量,50%甲醇稀释制成质量浓度分别为 50、25、12.5、6.25、3.125 μg/mL 的系列对照品溶液。分别取槲皮素系列对照品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,以槲皮素峰面积积分值为纵坐标,槲皮素质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=32.401 X-62.23$, $r=0.999 7$,结果表明槲皮素在 6.25~50 μg/mL 线性关系良好。

2.3.5 槲皮素的测定

取“2.2”项下制备的各浸膏,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,外标法计算槲皮素的量,并计算其提取率。

提取率 = 浸膏中槲皮素质量分数 × 浸膏质量 / 药材量

2.4 正交试验

以能综合反应浸膏收率和槲皮素提取率的综合评分为指标,优化复方枳参胶囊的提取工艺。在综合评分计算中,参照文献 [8] 将浸膏收率和槲皮素提取率两个指标转换成其隶属度:

指标隶属度 = (指标值 - 指标最小值) / (指标最大值 - 指标最小值);

综合评分 = 0.5 × 浸膏收率隶属度 + 0.5 × 槲皮素提取率隶属度。

通过直观分析可知(表 2),以槲皮素提取率和浸膏收率的综合评分为指标时,分析因素的主次顺序为: B>D>C>A,即乙醇体积分数>乙醇用量>提取次数>回流提取时间;优选出的最佳提取工艺为: B₂D₃C₂A₃,即 10 倍于药材量(g)的 70%乙醇(mL),回流提取 2 次,每次 2 h。

2.5 验证试验

按复方枳参胶囊的处方配比称取药材(90 g),

表2 正交试验设计及试验结果

水平	因素				浸膏收率/%	槲皮素提取率/%	综合评分
	A	B	C	D			
1	1	50	1	6	6.69	0.040	0.311
2	1	70	2	8	8.05	0.043	0.674
3	1	90	3	10	6.89	0.042	0.451
4	1.5	50	2	10	7.59	0.037	0.344
5	1.5	70	3	6	8.06	0.045	0.759
6	1.5	90	1	8	6.10	0.043	0.317
7	2	50	3	8	6.95	0.035	0.149
8	2	70	2	10	8.96	0.047	1.000
9	2	90	1	6	7.02	0.046	0.619
K_1	1.436	0.804	1.247	1.689			
K_2	1.420	2.433	2.018	1.140			
K_3	1.768	1.387	1.359	1.795			
R	0.348	1.629	0.771	0.655			

加入 70%乙醇溶液 900 mL, 回流提取 2 次, 每次 2 h。所得滤液回收乙醇, 减压干燥至恒定质量, 得浸膏 9.01 g, 浸膏收率为 10.01%; 按“2.3”项下方法操作测定槲皮素提取率, 结果槲皮素提取率为 0.049%。

通过考察验证试验的浸膏收率和槲皮素提取率, 确定上述工艺条件为复方枳椇胶囊处方药材提取的最佳条件。

3 讨论

3.1 组方药材的处理

在提取前, 组方药材必须在乙醇中浸泡过夜, 使有效成分能够充分溶出、提取更完全。

3.2 用氧化铝去除杂质

本试验采用氧化铝与浸膏混合, 因氧化铝具有吸附功能, 可吸附部分杂质和色素, 在样品测定时可除去部分杂质峰, 减少干扰。浸膏与氧化铝搅拌时, 氧化铝需有足够的量, 因浸膏中含有大量糖类物质, 黏性大; 如果氧化铝量不足, 糖类物质可吸收水分, 易造成结块。

3.3 用 50%甲醇配制供试品溶液

HPLC 测定的样品需用 50%甲醇配制、定容, 试验中曾用其他质量分数的甲醇配制供试品, 但峰形不好, 用 50%甲醇为溶剂以保证测定时峰形对称, 检测结果准确。

3.4 槲皮素的定性鉴别

样品中的槲皮素可以用高效薄层板对其进行鉴别, 以醋酸乙酯-石油醚-甲酸(5:4:0.5)为展开剂, pH 值调至 4, 得到与槲皮素对照品色谱相应位置上显示相同颜色荧光斑点。因为 pH 值调至酸性, 可抑制黄酮苷的酚羟基电离, 改善分离效果, 防止拖尾, 避免其他黄酮类化合物干扰槲皮素。

参考文献

- [1] 丁静, 朱肖鸿. 枳椇子预防大鼠酒精性脂肪肝的实验研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2007, 17(3): 156-158.
- [2] 嵇扬, 陆红. 枳椇子研究进展[J]. 中草药, 2002, 33(9): 附5-附7.
- [3] 张会香, 杨世军, 张静. 枳椇子总黄酮提取工艺及解酒作用[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(3): 84-86.
- [4] 文为, 张洪, 曾嵘. 枳椇子质量标准初步研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(5): 46-47.
- [5] 周永治, 马志庆. 医药数理统计[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 218-223.
- [6] 曾嵘, 文为, 张洪. 高效液相色谱法测定枳椇子中槲皮素的含量[J]. 医药导报, 2006, 25(8): 833-834.
- [7] 宋粉云, 张德志, 钟兆键, 等. HPLC 法测定枳椇子中槲皮素的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(5): 361-363.
- [8] 李云雁, 胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009, 10: 128-136.

(收稿日期 2010-09-27)