

# 正交试验法优选大连翘胶囊提取工艺

张素方, 程怡\*, 麦艳珍, 赵菊香, 余秋强, 邓妙丽  
(广州中医药大学, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 优选大连翘胶囊提取工艺条件。方法: 采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计, 以浸膏得率、正丁醇萃取部位得率、乙酸乙酯萃取部位得率、连翘苷含量为评价指标筛选最佳提取工艺, 采用高效液相色谱法测定连翘苷含量。结果: 正交试验所得的最佳提取条件为加水量 8 倍, 提取次数 2 次, 每次 2 h。结论: 该提取工艺合理、稳定、可行。

**[关键词]** 提取工艺; 正交试验; 正丁醇萃取部位得率; 乙酸乙酯萃取部位得率; 连翘苷

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0041-04

## Optimization of Extraction Technology for Dalianqiao Capsule by Orthogonal Design Method

ZHANG Su-fang, CHENG Yi\*, MAI Yan-zhen, ZHAO Ju-xiang, YU Qiu-qiang, DENG Miao-li  
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Dalianqiao capsule. **Method:**  $L_9(3^4)$  orthogonal design was used to select optimum extraction technology. Yield of extract, yield of n-butanol extraction site, yield of ethyl acetate extraction part and the content of phillyrin were used as criteria. The content of phillyrin was determined by HPLC. **Result:** Optimal extraction technology was as follow: extracted 2 times with 8 times the amount of water for 2 h each time. **Conclusion:** This extraction technology was reasonable, stable and feasible.

**[Key words]** extraction technology; orthogonal test; yield of n-butanol extraction site; yield of ethyl acetate extraction part; phillyrin

大连翘胶囊是由连翘、瞿麦、车前子、牛蒡子、黄芩等 16 味中药材组成, 具有清热解毒、疏风利湿之功, 用于治疗丹毒。该方来源于《外科正宗》卷四<sup>[1]</sup>, 原方名大连翘饮, 为传统剂型汤剂。组方中有效成分主要为水溶性成分, 且大部分药材含苷类成分, 可用正丁醇萃取得到, 方中部分药材含黄酮类等中等极性的成分, 可用乙酸乙酯萃取得到。采用传统的水煎煮提取浸膏, 正丁醇萃取部位得率和乙酸乙酯萃取部位得率可作为提取效果的考核指标。

方中连翘为君药, 其主要化学成分之一连翘苷<sup>[2-3]</sup>具有抗菌<sup>[4]</sup>、抗炎、解热、镇痛、抗病毒、抗内毒素等作用<sup>[5-6]</sup>。本研究采用正交试验法, 以浸膏得率、正丁醇萃取部位得率、乙酸乙酯萃取部位得率、提取液中连翘苷含量为考察指标, 进行综合评价, 对水提工艺的加水量、提取时间和提取次数进行优选, 以确定最佳水提工艺条件, 以期为扩大生产提供依据。

### 1 仪器和试剂

P680 型高效液相色谱仪 (PDA-100 二极管阵列检测器, ASI-100 自动进样器, P680A 四元泵, Autoscience AXW-5 柱温箱, 美国戴安), BT25S 型 1/10 万电子天平 (北京赛多利斯天平有限公司)。

连翘、瞿麦、车前子、牛蒡子、黄芩等药材均购自广东康美药业有限公司。药材按照 2010 年版《中国药典》一部及广东康美药业有限公司企业内控标准进行检查, 结果均符合规定。

**[收稿日期]** 20111026(004)

**[第一作者]** 张素方, 在读硕士, 从事天然药物剂型与应用研究, Tel: 13570261731, E-mail: zhangsufang\_dyz@163.com

**[通讯作者]** \* 程怡, 教授, 本科, 从事药剂学研究, Tel: 020-80413935, E-mail: vip.chengyi@gzhtcm.edu.cn

连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0821-200104),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法和结果

**2.1 正交试验设计** 在预试验基础上,确定加水量、提取时间和提取次数为影响因素,正交试验的因素和水平见表 1。以浸膏得率、正丁醇部位得率、乙酸乙酯部位得率、连翘苷含量为评价指标进行综合评价。

表 1 大连翘胶囊提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次
1	6	1	1
2	7	1.5	2
3	8	2	3

**2.2 样品的制备** 按 1/2 处方量(480 g 生药),称取连翘、黄芩等药材各 9 份,分别按相应倍数加水量、提取时间和次数进行提取。各组所得药液分别用纱布滤过后,最后定容至 250 mL 备用。

**2.3 浸膏得率的测定** 精密吸取药材水煎液 20 mL,置于已干燥至恒重的蒸发皿中,80 °C 水浴蒸干后,移至烘箱中,105 °C 干燥 3 h,移至干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算浸膏得率。

**2.4 正丁醇萃取部位得率** 精密量取提取液 20 mL,用水饱和正丁醇溶液萃取 3 次,每次 20 mL,合并萃取液,置于精密称重的恒重蒸发皿中,于水浴上蒸发至干。残渣置 105 °C 烘箱中干燥 3 h,移于干燥器中冷却 30 min,取出迅速精密称定质量,计算得率。

**2.5 乙酸乙酯萃取部位得率** 精密量取提取液 20 mL,用乙酸乙酯萃取 3 次,每次 20 mL,合并萃取液,置于精密称重的恒重蒸发皿中,于水浴上蒸发至干。残渣置 105 °C 烘箱中干燥 3 h,移于干燥器中冷却 30 min,取出迅速精密称定质量,计算得率。

### 2.6 连翘苷含量测定

**2.6.1 色谱条件和系统适用性实验**<sup>[7]</sup> Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(25:75),检测波长 277 nm,理论塔板数按连翘苷峰计算不低于 3 000。

**2.6.2 对照品溶液的制备** 精密称取 105 °C 干燥至恒重的连翘苷对照品 2.1 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。

**供试品的制备** 取上述正丁醇萃取部位,挥干溶剂,残渣用甲醇溶解,与 3 g 中性氧化铝拌匀,加

在中性氧化铝(100 ~ 200 目,8 g,内径 1 cm),用 70% 乙醇 235 mL 洗脱,收集洗脱液,回收乙醇,浓缩至干,残渣用甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,稀释至刻度,摇匀,转移至离心管进行离心处理(8 000 r·min<sup>-1</sup>,10 min),取上清液,0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得<sup>[7-10]</sup>。

**阴性对照溶液** 按处方比例称取除了连翘外的药材,按供试品的制备方法进行制备。

**2.6.3 线性关系的考察** 分别精密量取上述标准品溶液 0.2,0.4,0.6,0.9,1.2,1.5 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。分别进样 10 μL 测定。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程  $A = 0.106C - 0.042$  ( $R^2 = 0.9996$ )。表明连翘苷在 4.2 ~ 31.5 mg·L<sup>-1</sup> 呈良好线性关系。

**2.6.4 精密度试验** 精密量取连翘苷对照品溶液,进样 10 μL,重复进样 5 次,峰面积 RSD 2.18%。

**2.6.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液在每隔 2 h 分别进样 10 μL 测定。测定峰面积 RSD 4.75%,表明供试品在 8 h 内稳定性良好。

**2.6.6 加样回收试验** 取已知含量的同一批样品 6 份,分别准确加入连翘苷对照品溶液 1.0 mL,按供试品的制备项下操作方法制备供试品溶液。精密吸取 10 μL,依法测定含量。结果平均回收率为 99.89%,RSD 4.26%。

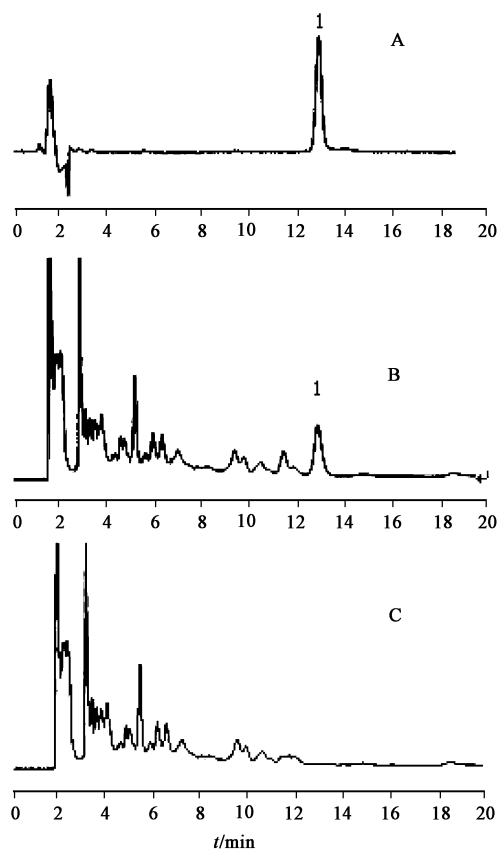
**2.6.7 样品含量测定** 分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 10 μL,注入色谱仪,计算连翘苷含量。对照品、供试品、阴性样品色谱见图 1。

**2.7 正交试验分析** 正交试验结果见表 2。由表 2 直观分析可知,得膏率的最优工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>,正丁醇萃取部位得率的最优工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,乙酸乙酯萃取部位得率的最优工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>,连翘苷提取率的最优工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>。从方差分析结果(表 3)可知,本试验中的 3 个因素均对得膏率有显著性影响,对乙酸乙酯萃取部位没有显著影响,而提取次数是影响正丁醇萃取得率的关键因素,提取时间是影响连翘苷提取率的关键因素,所以 A 因素选取得膏率的最优水平 A<sub>3</sub>。B 因素选取 B<sub>3</sub>,即 2 h。由于正丁醇萃取部位主要含苷类成分,多为复方中的有效成分,所以 C 因素根据正丁醇萃取部位的结果选取最优水平 C<sub>2</sub>。综上所述,确定最优工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即加水量 8 倍,提取次数 2 次,每次 2 h。

**2.8 验证试验** 为验证上述结果的准确性,保证提取工艺的合理可行,按上述已确定最佳工艺条件

表2 大连翘胶囊提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	%			
					得膏率	正丁醇萃取得率	乙酸乙酯萃取得率	连翘苷
1	1	1	1	1	16.72	2.094	0.657	0.339
2	1	2	2	2	27.44	3.556	0.714	0.745
3	1	3	3	3	31.17	3.605	1.893	1.003
4	2	1	2	3	22.69	3.296	1.405	0.505
5	2	2	3	1	27.28	3.061	2.115	0.676
6	2	3	1	2	15.94	2.594	2.586	0.586
7	3	1	3	2	28.19	2.588	0.944	0.643
8	3	2	1	3	19.11	2.118	0.713	0.495
9	3	3	2	1	29.06	4.484	2.593	1.224
得膏率	$K_1$	25.110	22.533	17.257	24.353			
	$K_2$	21.970	24.610	26.397	23.857			
	$K_3$	25.453	25.390	28.880	24.323			
	R	3.483	2.857	11.623	0.496			
正丁醇	$K_1$	3.085	2.659	2.269	3.213			
	$K_2$	2.984	2.912	3.779	2.913			
	$K_3$	3.063	3.561	3.085	3.006			
	R	0.101	0.902	1.510	0.300			
乙酸乙酯	$K_1$	1.088	1.002	1.319	1.788			
	$K_2$	2.035	1.181	1.571	1.415			
	$K_3$	1.417	2.357	1.651	1.337			
	R	0.947	1.355	0.332	0.451			
连翘苷	$K_1$	0.696	0.496	0.473	0.746			
	$K_2$	0.589	0.639	0.825	0.658			
	$K_3$	0.787	0.938	0.774	0.668			
	R	0.198	0.442	0.352	0.088			



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 连翘苷

图1 大连翘胶囊 HPLC

表3 各指标方差分析

项目	方差来源	SS	f	MS	F	P
得膏率	A	22.111	2	11.056	47.551	<0.05
	B	13.081	2	6.541	28.131	<0.05
	C	224.808	2	112.404	483.458	<0.01
	误差	0.47	2			
正丁醇萃取得率	A	0.017	2	0.009	0.120	>0.05
	B	1.298	2	0.649	9.141	>0.05
	C	3.428	2	1.714	24.141	<0.05
	误差	0.14	2			
乙酸乙酯萃取得率	A	1.388	2	0.694	3.977	>0.05
	B	3.252	2	1.626	9.318	>0.05
	C	0.180	2	0.090	0.516	>0.05
	误差	0.35	2			
连翘苷	A	0.059	2	0.030	4.214	>0.05
	B	0.305	2	0.153	21.786	<0.05
	C	0.216	2	0.108	15.429	>0.05
	误差	0.01	2			

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

$A_3B_3C_2$ , 进行3批验证试验, 结果平均浸膏得率为29.16%, 正丁醇萃取部位平均得率为4.47%, 乙酸乙酯萃取部位平均得率为2.61%, 连翘苷平均质量分数为1.23%, 由此可见, 该工艺合理、稳定、可靠、重现性良好, 适用于工业大生产。

### 3 讨论

试验采用 HPLC 对比了不同采集加工的青翘与老翘中的连翘苷含量, 结果显示, 青翘中连翘苷含量高于老翘, 故本处方选用青翘作为原料药材投药。

用单一考察指标筛选中药提取工艺条件并不全面, 单一指标的优劣并不能完全代表中药制剂整体质量的优劣。因此本研究在大连翘胶囊提取工艺优选中, 采用了4个指标进行评价, 以综合考察提取工

艺的优劣, 但因中药成分的复杂性, 其效果尚需结合

# 超声波协同复合酶法提取半边莲多糖工艺优选

黄秀香, 赖红芳\*, 罗丽程

(河池学院化学与生命科学系, 广西 宜州 546300)

**[摘要]** **目的:** 探讨超声波协同复合酶法对半边莲多糖提取率的影响。**方法:** 以半边莲为原料, 用超声波协同复合酶法提取多糖, 通过单因素和正交试验对半边莲多糖的提取工艺进行优化。**结果:** 超声波协同复合酶法提取半边莲多糖的最佳工艺条件为 pH 4.0, 料液比 1:40, 超声波时间 25 min, 复合酶用量 1.0%。**结论:** 超声波协同复合酶法具有提取率高、工艺简单、节能的特点。

**[关键词]** 半边莲; 多糖; 超声波; 复合酶

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0044-03

## Optimization of Extraction Technology for Polysaccharide from *Lobelia chinensis* by Ultrasonic-Composite Enzyme Synergistic Method

HUANG Xiu-xiang, LAI Hong-fang\*, LUO Li-cheng

(Department of Chemistry and Life Sciences, Hechi University, Yizhou 546300, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate effect of ultrasonic-composite enzyme synergistic method on extraction rate of polysaccharide from *Lobelia chinensis*. **Method:** With *L. chinensis* as raw material, polysaccharide was extracted by ultrasonic-composite enzyme synergistic method, extraction technology of polysaccharide from *L. chinensis* was optimized by single factor test and orthogonal test. **Result:** Optimum technology conditions were as follows: pH 4.0, ratio of solid-liquid 1:40, ultrasonic time 25 min, the amount of enzyme 1.0%. **Conclusion:** Ultrasonic-composite enzyme synergistic method had features of high extraction ratio, simple process, energy-saving.

**[Key words]** *Lobelia chinensis*; polysaccharide; ultrasonic wave; enzyme

**[收稿日期]** 20111003(002)

**[基金项目]** 广西教育厅项目(201010LX457)

**[第一作者]** 黄秀香, 硕士, 副教授, 从事天然有机化学研究, Tel:0778-3141892, E-mail:hxx1372@163.com

**[通讯作者]** \* 赖红芳, 硕士, 副教授, 从事天然有机化学及分析化学研究, Tel:0778-3141892, E-mail:laihongfang263@tom.com

药效试验和临床观察进一步研究。

### [参考文献]

[1] 南京中医药大学. 中医方剂大辞典精选本[M]. 北京:人民卫生出版社, 1999:146.  
[2] 简永耀, 靳龙文. 连翘的化学成分及药理学研究[J]. 淮海医药, 2009, 27(4):349.  
[3] 郭强, 王智民, 林丽美, 等. 连翘属药用植物化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(5):76.  
[4] 李仲兴, 王秀华, 赵建宏, 等. 连翘对金黄色葡萄球菌及表皮葡萄球菌的体外抗菌活性研究[J]. 天津中医药, 2007, 24(4):3281.

[5] 杨淑文. 32种中成药抑菌活性的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(3):1361.  
[6] 张立伟, 刘金, 杨频. 中草药连翘提取物抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2003, 24(2):122.  
[7] 中国药典. 一部[S]. 2010:159.  
[8] 张国彪. HPLC测定清灵感冒颗粒中连翘苷的含量[J]. 海峡药学, 2008, 20(8):49.  
[9] 韩家忠, 贾善学. 高效液相色谱法测定牛黄清感胶囊中连翘苷的含量[J]. 医药导报, 2009, 28(10):1358.  
[10] 刘永, 田军, 李刘辉. 高效液相色谱法测定中耳炎颗粒中连翘苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12):16.

[责任编辑 全燕]