

## 正交试验法优选颐正活脉丸提取工艺

朱志军, 李氏, 张太行, 苏晓凯  
(河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** 目的: 优选颐正活脉丸的最佳提取工艺。方法: 采用正交实验设计, 以高效液相色谱法测定提取液中熊果酸、齐墩果酸总量及浸膏得率为指标, 优选颐正活脉丸的提取工艺。结果: 最佳提取工艺为  $A_1B_2C_3D_2$ , 即 10 倍量的 90% 乙醇加热回流 2 次, 每次 1.5 h。结论: 该提取工艺稳定, 安全, 简便易行。

**[关键词]** 颐正活脉丸; 正交试验; 提取工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0039-03

## Optimizing Extraction Technology of Yizheng Huomai Pill by Orthogonal Test

ZHU Zhi-jun, LI mi, ZHANG Tai-hang, SU Xiao-kai

(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the extraction technology of Yizheng Huomai pill. **Method:** The content of the total amount of ursolic acid and oleanolic acid was detected by HPLC and orthogonal experiment was used to research the best procedure with the rate of extractum as index. **Result:** The optimum process was  $A_1B_2C_3D_2$ , 10 fold of 90% ethanol, decocting 2 times and 1.5 h each time. **Conclusion:** The optimum technology of Yizheng Huomai pill is simple, stable and effective.

**[Key words]** Yizheng Huomai pill; orthogonal test; extraction technology

颐正活脉丸由山茱萸、五味子、地黄、天竺黄、远志、菖蒲、山药、茯苓等组成, 临床研究表明该方对心脑血管疾病有良好的防治作用。本文采用正交试验法, 以熊果酸和齐墩果酸总量与浸膏得率为指标对颐正活脉丸的提取工艺进行研究, 筛选最佳提取工艺。

### 1 仪器与试药

Agilent 1100 液相色谱仪; 熊果酸、齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所, 纯度  $\geq 98\%$ , 批号 100603, 200506); 甲醇为色谱纯; 其余试剂均为分析纯。山茱萸、五味子、地黄、天竺黄、远志、菖蒲等药材购至河南中医学院第一附属医院, 经河南中医学院陈随清教授鉴定。

### 2 方法与结果

#### 2.1 熊果酸和齐墩果酸 HPLC 法检测<sup>[1]</sup>

**2.1.1 色谱条件** 流动相 甲醇-水 (90:10), ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 215 nm, 流速 0.6 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 ℃。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 取熊果酸和齐墩果酸对照品, 加甲醇制成每 1 mL 分别含有熊果酸和齐墩果酸 60 μg 的溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取按正交实验设计的工艺提取液, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

**2.1.4 线性关系考查** 取不同浓度的熊果酸和齐墩果酸对照品溶液分别进样, 以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X), 经回归得标准曲线, 齐墩果酸为  $Y = 1.272.049X - 14.776$  ( $r = 0.999$ ), 齐墩果酸为  $Y = 1.350.048X - 28.707$  ( $r = 0.999$ )。结果表明熊果酸和齐墩果酸分别在进样量 0.003 ~ 3 μg 线性关系良好。

**[收稿日期]** 20110210(010)

**[基金项目]** 郑州市科技攻关项目(083SGXS33264-5)

**[第一作者]** 朱志军, 副主任药师, 研究方向: 中药复方新技术和新剂型, Tel: 0371-65996501

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取熊果酸和齐墩果酸对照品溶液 10  $\mu\text{L}$  进样,重复 6 次,分别测定其面积分值,结果熊果酸 RSD 0.56%,齐墩果酸 RSD 0.88%。

**2.1.6 稳定性试验** 取适量供试品溶液于 0,2,4,6,12,24 h 内按 2.1.1 项下测定,结果熊果酸 RSD 1.05%,齐墩果酸 RSD 0.83%。供试品溶液在 0 ~ 24 h 内基本稳定。

**2.1.7 重复性试验** 分别精密吸取 2.1.3 项下供试品溶液,按分离色谱条件测定,结果熊果酸 RSD 1.54%,齐墩果酸 RSD 1.32%。

**2.1.8 加样回收率试验** 分别精密吸取 2.1.3 项下的同一样品溶液 0.1 mL,分别精密加入 2.1.2 项下溶液 1.5,2,2.5 mL,按 2.1.3 项下制备,并按 2.1.1 项下测定方法,计算回收率,结果熊果酸平均为 98.78%,RSD 2.01%;齐墩果酸平均为 98.06%,RSD 2.32%。

**2.1.9 样品含量测定** 分别取对照品溶液、供试品溶液 1~9 进样 10  $\mu\text{L}$ ,计算每克样品中所含的熊果酸和齐墩果酸含量( $n=3$ )。

**2.2 干浸膏得率的测定** 精密量取各提取液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干,于 105  $^{\circ}\text{C}$  干燥 3 h,移置干燥期中冷却 30 min,精密称定质量,计算干浸膏得率。

**2.3 正交试验设计** 颐正活脉丸处方由山茱萸、五味子、地黄、天竺黄、远志、菖蒲、山药、茯苓组成,制成浓缩丸。山药、茯苓富含粉性成分,打细粉后备用。为减少服用量,其余药材进行乙醇提取。提取药材的处方量为山茱萸 50 g、五味子 35 g、地黄 50 g、天竺黄 20 g、远志 30 g、菖蒲 30 g。考虑到影响有效成分主要提取因素为乙醇体积分数、提取时间、液固比、提取次数 4 因素,取 3 水平,用  $L_9(3^4)$  正交试验表安排实验,因素水平见表 1,正交实验设计及结果见表 2。对表 2 结果进行统计学处理,方差结果见表 3,4。

表 1 颐正活脉丸处方提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取时间/h	C 液固比	D 提取次数/次
1	90	1	6:1	1
2	80	1.5	8:1	2
3	70	2	10:1	3

表 2 颐正活脉丸处方提取工艺正交试验结果

No.	A	B	C	D	熊果酸和齐墩果酸总量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	干浸膏得率/%
1	1	1	1	1	2.00	20.10
2	1	2	2	2	2.15	23.10
3	1	3	3	3	2.29	28.90
4	2	1	2	3	1.38	26.10
5	2	2	3	1	1.37	19.35
6	2	3	1	2	1.26	27.80
7	3	1	3	2	0.93	22.40
8	3	2	1	3	0.96	23.80
9	3	3	2	1	0.88	17.50
含量	$K_1$	6.44	4.31	4.22	4.40	
	$K_2$	4.01	4.48	4.41	4.34	
	$K_3$	2.77	4.43	4.59	4.63	
	R	3.67	0.17	0.37	0.29	
干浸膏得率	$K_1$	72.10	68.60	71.70	56.95	
	$K_2$	73.25	66.25	66.70	73.30	
	$K_3$	63.80	74.20	70.65	78.80	
	R	9.45	7.95	5.00	21.85	

表 3 熊果酸和齐墩果酸总量的方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2.323	2	1.162	464.600	<0.01
C	0.023	2	0.011	4.600	
D	0.026	2	0.013	5.200	
误差	0.005	2	0.003	1.000	

注:  $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

表 4 干浸膏得率的方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	18.121	2	9.060	3.910	
B	11.121	2	5.560	2.399	
D	86.111	2	43.055	18.582	<0.10
误差	4.634	2	2.317	1.00	

注:  $F_{0.10}(2,2) = 9.00, F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

**2.4 结果分析** 通过对表 2 数据进行直观分析,以浸膏得率为评价指标,最佳工艺条件为  $A_2B_3C_1D_3$ ,各因素的主次顺序为 D,A,B,C;以熊果酸和齐墩果酸总量为评价指标,其最佳工艺条件为  $A_1B_2C_3D_3$ ,各因素的主次为 A,C,D,B。方差分析表明,D 因素

## 正交设计优选退白汤的提取工艺

盛国荣

(江苏省南通市皮肤病性病防治所, 江苏南通 226006)

**[摘要]** 目的:研究退白汤的提取工艺。方法:采用正交试验设计法考察不同提取工艺制备的退白汤中补骨脂素和异补骨脂素的含量,依据试验数据设计最佳提取工艺。结果:加水量、煎煮时间对提取效果有显著影响,最佳提取工艺为加水 10 倍量,药材浸泡 1 h,煎煮 2 次,每次煎煮 1 h。结论:优选出的提取工艺经济,简便,提取效率高。

**[关键词]** 正交设计;退白汤;补骨脂素;异补骨脂素;提取工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0041-04

### Experimental Study of Extracting Technology Optimization with Orthogonal Design for Tuibai Decoction

SHENG Guo-rong

(Nantong institution for Dermatoses and Venereal Disease prevention, Nantong 226006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To research the extracting technology for Tuibai decoction. **Method:** Orthogonal design method is used to assay psoralen and isopsoralen in Tuibai decoction prepared with different extracting methods. The best extracting method is designed according to the result of these studies. **Result:** Quantity of water

**[收稿日期]** 20110216(002)

**[基金项目]** 南通市指令性社会发展科技计划项目(S2009047)

**[第一作者]** 盛国荣,主任药师,从事医院新制剂的研发和药事管理,Tel:0513-81551531,13615202386, E-mail:ntmgr@126.com

对浸膏收率有显著性影响,A 因素熊果酸和齐墩果酸总量有极显著影响。综上分析,结合实际情况,确定  $A_1B_2C_3D_2$  为最佳提取工艺,即 10 倍量 90% 乙醇提取 2 次,每次 1.5 h。

**2.5 验证试验** 为考察优选提取工艺的稳定性,按处方量取药材 3 份,加 10 倍量 90% 的乙醇,提取 2 次,每次回流 1.5 h,分别测定熊果酸和齐墩果酸总量及干浸膏得率。结果表明:用优选的工艺条件提取,熊果酸和齐墩果酸总量及干浸膏得率均较高,且稳定。

### 3 讨论

本实验中采用山茱萸中的主要成分熊果酸和齐墩果酸及浸膏得率为指标优选工艺,选择可能影响提取工艺的 4 个因素进行优化,确定了最佳提取工艺,为进一步研究提供了基础。

现代医学研究表明山茱萸中的有效成分熊果酸和齐墩果酸具有抗菌、降血糖、调节免疫等功能<sup>[2]</sup>,由于山茱萸中主要有效成分熊果酸和齐墩果酸为脂溶性成分,随着乙醇浓度增大溶解度相应增大。正交试验结果表明,乙醇浓度对熊果酸和齐墩果酸总量提取有显著差异,随浓度增加而提高。本文中以熊果酸和齐墩果酸作为指标进行含量测定,但不能完全代表复方的疗效。

### [参考文献]

- [1] 邹瑾丽,项乐源,杨祉雯,等. 正交试验法优选山茱萸的提取工艺[J]. 中国临床药学杂志, 2009, 18(1):37.
- [2] 楚晋. 山茱萸化学成分及药理活性的研究[J]. 中国自然医学杂志, 1999, 1(1):46.

[责任编辑 全燕]