

正交法优选蜜麸炒樟帮枳壳炮制工艺

张金莲, 何敏, 谢一辉, 姚冬琴, 张的凤*
(江西中医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 用正交试验法优选并确立樟帮枳壳蜜麸炒工艺, 为规范蜜麸炒樟帮枳壳饮片的炮制工艺提供技术参数。方法: 以柚皮苷含量、新橙皮苷含量、橙皮苷含量、色度差为指标, 采用正交试验法对炮制温度, 炮制时间, 加麸量、加蜜量 4 因素, 每个因素取 4 个水平, 进行枳壳麸炒工艺优选考察。结果: 炮制温度, 炮制时间对实验结果均有显著影响, 确定最佳枳壳麸炒工艺为: 炮制温度 200 , 炮制时间 120 s, 加麸量 10%, 加蜜量 15%。结论: 正交试验确定的最佳工艺合理、可靠、重复性好。

[关键词] 蜜麸炒; 樟帮枳壳; 柚皮苷; 新橙皮苷; 橙皮苷; 色度差

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0008-04

Processing of Stir-frying with Honey Bran for Zhang-Ban Fructus Aurantii by Orthogonal Design

ZHANG Jin-lian, HE Min, XIE Yi-hui, LI Guo, ZHANG De-feng*
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] Objective: In order to regulate processing technology of stir-fried with honey bran for Zhang-Ban Fructus Aurantii to provide technical parameters, the orthogonal design was used to optimize and establish a technique of stir-fried with honey bran for Zhang-Ban Fructus Aurantii. **Method:** The orthogonal design with four factors (including temperature, time, bran amount and honey amount) and four levels was employed to determine the effects, and the contents of neohesperidin, naringin, hesperidin, and the color difference used as four indexes. **Result:** Temperature, time and bran amount had significant effects on experimental results. The processing technique of stir-frying with bran for Zhang-Ban Fructus Aurantii was that the amount of 10% bran and 15% honey were added and Zhang-Ban Fructus Aurantii was fried at 200 for 120 seconds. **Conclusion:** The optimum condition obtained through orthogonal experiments was reasonable, reliable and repeatable.

[Key words] stir-frying with honey bran; Zhang-Ban Fructus Aurantii; orthogonal design; naringin; neohesperidin; hesperidin; color difference

枳壳为芸香科柑橘属植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实。具有理气宽中, 行滞消胀之功效, 主治胸胁气滞, 胀满疼痛, 食积不化, 痰饮内停, 胃下垂, 脱肛, 子宫脱垂等^[1]。樟帮枳壳除在形状加工上有独特之处, 且在炮制的

品种上有麸炒和蜜麸炒 2 种^[2], 目前蜜麸炒樟帮枳壳饮片工艺控制主要凭经验, 缺乏具体的工艺参数。本试验采用色度差和柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量为指标蜜麸炒枳壳工艺进行优选, 为规范蜜麸炒樟帮枳壳的炮制工艺提供技术参数, 为樟帮枳壳饮片的质量控制提供了一定的科学依据。

1 仪器与试药

Ultimate3000 高效液相色谱仪, Ultimate3000 photodiode Array Detector, Ultimate3000 自动进样器, Ultimate3000 柱温箱, Ultimate3000 色谱工作站, AG245 电子分析天平, Sartorius BS124 电子天平(北

[收稿日期] 20100209(003)

[基金项目] “十一五”国家科技支撑计划(2006BAI06A07-02); 江西省卫生厅基金项目(2008Z0026)

[第一作者] 张金莲, 教授, 理学硕士, 从事中药学教学研究, Tel: 0791-7118995, E-mail: jxjzjl@163.com

京赛多利斯仪器系统有限公司), TN408LC 型红外测温枪(上海仪迷杰光电技术有限公司)。

柚皮苷(中国药品生物制品检定所,批号 110722-200309),橙皮苷对照品(中国药品生物制品检定所,110721-200211),新橙皮苷(由江西中医学院重点实验室杨武亮教授提供,含量归一法 99.34%);甲醇(色谱纯)(美国 Merck 公司),乙腈(色谱纯)(美国 Merck 公司),哇哈哈纯净水。其他试剂均为分析纯。樟帮枳壳饮片生品由本实验室自制。

2 方法与结果

2.1 柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷含量测定方法学研究^[3]

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Ultimate3000 C18 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(磷酸调 pH 3)(23:77),检测波长 283 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30℃。理论塔板数以柚皮苷计算不低于 3 000。对照品、供试品溶液和溶剂的色谱图见图 1。

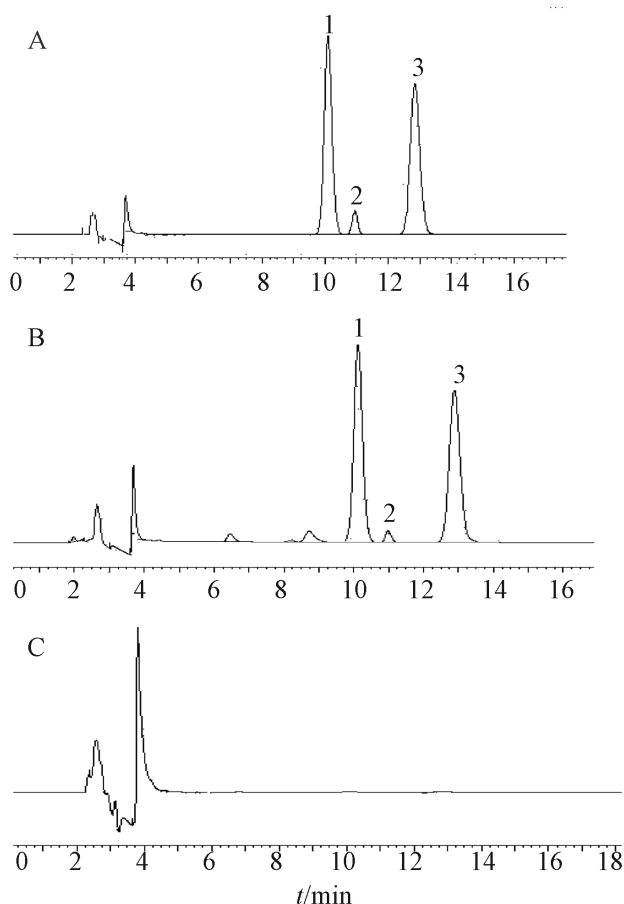


图 1 枳壳含量测定高效液相色谱

A. 对照品; B. 供试品; C. 溶剂

1. 柚皮苷; 2. 橙皮苷; 3. 新橙皮苷

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷对照品、新橙皮苷、橙皮苷对照品适量,用甲醇溶解制成 1 mL 含柚皮苷 0.079 12 mg、新橙皮苷 0.047 mg、橙皮苷 0.010 3 mg 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取枳壳饮片粉末(40 目)约 0.5 g,置 100 mL 圆底烧瓶中,加甲醇水浴加

热回流 1.5 h 后,趁热滤过,滤液置 50 mL 量瓶中,药渣再提取 2 次(每次加 10 mL 甲醇提取 10 min),滤液置同一量瓶中,待冷却后加甲醇至刻度,摇匀,准确取出 5 mL 转移至 25 mL 量瓶中,用甲醇定容,0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液,备用。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μL,按 2.1.1 项下的色谱条件,自动进样 10 μL,记录色谱峰面积。以峰面积 A 为纵坐标,对照品浓度 C 为横坐标,进行线性回归,柚皮苷: $Y = 32.24X - 0.1572$, $r = 0.9999$; 橙皮苷: $Y = 25.653X + 0.0071$, $r = 0.9999$; 新橙皮苷: $Y = 38.872X + 0.0468$, $r = 0.9999$ 。结果表明柚皮苷在 0.316 4 ~ 1.582 4 μg,橙皮苷 0.041 2 ~ 0.206 0 μg,新橙皮苷 0.188 0 μg ~ 0.940 0 μg 线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 精密吸取对照品混合溶液 10 μL,注入色谱仪,在相同的色谱条件下,重复进样 6 次,以柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品的峰面积计算, RSD 分别为 2.28%, 3.48%, 2.90%。结果表明精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取枳壳药材粉末(40 目),按 2.1.3 项下方法,精密称 6 份,制备供试品溶液,平行测定,记录色谱峰面积,柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 0.62%, 2.89%, 1.35%。结果表明该方法重现性良好。

2.1.7 稳定性试验 精密称取枳壳药材粉末(40 目)0.5 g,按 2.1.3 项下制备样品溶液,分别在 0, 1, 2, 4, 5 d 进样 10 μL,记录色谱峰面积,计算柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷色谱峰面积的 RSD 分别为 1.02%, 2.29%, 2.00%,表明 120 h 内供试品稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取已知柚皮苷和新橙皮苷含量的枳壳药材 6 份,每份约 0.25 g,分别加入柚皮苷和新橙皮苷储备液适量至 100 mL 圆底烧瓶中,按 2.1.3 项下的方法制备供试品溶液,测定,计算回收率。见表 1。

表 1 柚皮苷、新橙皮苷加样回收率 ($n=6$)

组分	原含量 /mg	加入量 /mg	测得总含量 /mg	回收率 /%	RSD /%
柚皮苷	4.008	0.791 2	4.759	99.17	2.26
橙皮苷	0.182 4	0.117 5	0.286 6	95.55	3.72
新橙皮苷	2.033	0.791 2	4.714	96.11	3.17

2.2 炮制工艺研究

2.2.1 炮制方法 取樟帮枳壳饮片生品, 依照正交设计表 $L_{16}(4^5)$ 进行饮片炮制。

2.2.2 指标测定 取按正交设计表炮制的枳壳饮片 **2.1.3** 项下操作制备样品溶液, 进样 10 μL , 测定, 记录色谱峰面积, 计算柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量。取 20 片炮制好的标准饮片, 在 CIE 规定的标准光源条件下获取各饮片外观的色泽信息(照片文件)。用 Adobe Photoshop9.0 分别读入各饮片外观的色泽信息数据(照片文件), 读取标准饮片的色泽指标数据 L, a, b 值, 并计算其平均值。另取依法炮制的饮片 5~10 片, 依法读取各批次饮片的色泽指标数据 L, a, b 值。用最新色差公式 CIEDE2000 计算各批饮片的色度差。

2.2.3 正交实验设计安排及结果 采用 $L_{16}(4^5)$ 正交表对加入炮制温度、炮制时间、加麸量、加蜜量进行考察, 以炮制后的饮片色度差、柚皮苷含量、橙皮苷含量、新橙皮苷含量为考察指标, 以此对麸炒樟帮枳壳的炮制工艺正交试验结果进行筛选。正交试验设计见表 2。

表 2 麸炒樟帮枳壳炮制工艺正交试验因素水平

水平	A 温度 /	B 时间 /s	C 加麸量 /%	D 加蜜量 /%
1	120	30	10	10
2	160	60	15	15
3	200	90	20	20
4	240	120	25	25

2.3 结果分析 以不同工艺的因素为自变量, 饮片外观色度差, 柚皮苷含量, 橙皮苷含量, 新橙皮苷含量的标准化值为评判指标, 用 13.0 版 SPSS 统计软件进行相关性和方差分析, 结果见表 3~5。

表 3 多因素皮菜痕迹测试

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	0.971	132.731	4.000	16.000	0.000
炮制温度	0.822	1.697	12.000	54.000	0.043
炮制时间	0.559	1.030	12.000	54.000	0.044
加麸量	0.481	0.859	12.000	54.000	0.592
加蜜量	0.31	0.519	12.000	54.000	0.893

表 3~5 显示在炮制工艺中, 炮制温度、炮制时间对工艺有显著影响, 比较 sig 值可以看出, 影响程度依次是炮制温度 > 炮制时间 > 加麸量 > 加蜜量。

表 4 炮制工艺相关性分析 (n=32)

项目	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	色度差
炮制温度	-0.355 ¹⁾	-0.227	-0.322	-0.041
炮制时间	-0.042	-0.085	0.096	-0.009
加麸量	-0.104	-0.038	-0.035	0.192
加蜜量	0.043	-0.224	-0.069	-0.028
柚皮苷含量	1	0.688 ²⁾	0.902 ²⁾	-0.467 ²⁾
橙皮苷含量	0.688 ²⁾	1	0.820 ²⁾	-0.222
新橙皮苷含量	0.902 ²⁾	0.820 ²⁾	1	-0.363 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

表 5 不同炮制工艺数据分析 (n=32)

Dependent Variable	A	聊	Bs	聊	C/%	聊	D%	聊	Std Error
柚皮苷	120	0.800	30	0.653	10	0.705	10	0.579	0.109
	160	0.510	60	0.610	15	0.526	15	0.585	0.109
	200	0.602	90	0.421	20	0.515	20	0.577	0.109
	240	0.450	120	0.678	25	0.616	25	0.620	0.109
橙皮苷	120	0.567	30	0.527	10	0.495	10	0.493	0.077
	160	0.375	60	0.449	15	0.487	15	0.560	0.077
	200	0.577	90	0.409	20	0.384	20	0.426	0.077
	240	0.352	120	0.486	25	0.505	25	0.392	0.077
新橙皮苷	120	0.823	30	0.675	10	0.717	10	0.659	0.077
	160	0.530	60	0.607	15	0.594	15	0.680	0.081
	200	0.700	90	0.550	20	0.586	20	0.626	0.081
	240	0.539	120	0.761	25	0.695	25	0.628	0.081
色度差	120	0.529	30	0.447	10	0.270	10	0.487	0.084
	160	0.416	60	0.401	15	0.617	15	0.419	0.084
	200	0.336	90	0.576	20	0.449	20	0.441	0.084
	240	0.525	120	0.382	25	0.469	25	0.459	0.084

炮制温度与柚皮苷的含量存在显著的负相关, 柚皮苷含量、橙皮苷含量、新橙皮苷含量之间存在正相关。色度差与柚皮苷含量和新橙皮苷含量存在显著的负相关。以柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的高含量和低色度差作为评价指标, 综合分析可以得出蜜麸炒樟帮枳壳的最佳工艺为 $A_3B_4C_1D_2$ 。即炮制温度 200, 炮制时间 120 s, 加麸量 10%, 加蜜量 15% 蜜麸炒樟帮枳壳为佳。另取樟帮枳壳饮片照优化工艺进行了 10 批验证实验(结果见表 6)。说明正交设计筛选出工艺合理。本实验用红外温度计控制温度, 操作方便。传统炮制工艺控制仅要求色泽为淡黄色, 现用色度量化了枳壳饮片色泽性状指标, 从

(下转第 14 页)

贯叶连翘总黄酮的纯化工工艺研究

王刚^{*}, 马忠仙, 谭莉莉

(遵义医学院 药物化学教研室, 贵州 遵义 563003)

[摘要] 目的: 研究大孔吸附树脂富集贯叶连翘总黄酮的工艺条件及参数。方法: 以静态饱和吸附量、静态解吸率为考察指标, 比较了 6 种大孔树脂纯化贯叶连翘总黄酮的工艺。又以总黄酮含量为指标, 对最佳树脂吸附工艺条件进行了筛选。结果: HPD-600 树脂吸附和解吸效果最佳, 上样液的质量浓度 $3.81 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 吸附流速 $1 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$, 洗脱剂 70% 乙醇, 洗脱流速 $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$, 洗脱剂用量 3 BV。

[关键词] 贯叶连翘; 总黄酮; 大孔吸附树脂

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0011-04

Study on Purification Process of Total Flavonoids from *Hypericum Perforatum*

WANG Gang^{*}, MANG Zhong-xian, TAN Li-li

(Department of Medicinal Chemistry, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

[Abstract] To investigate the technological parameters of the enrichment process of total flavones from *Hypericum perforatum* with macroreticular resins. The static capacity absorption and the static rate of desorption of six types macroreticular resins were studied and compared respectively in order to find the optimum macroreticular resin. The technical process for purification of total flavones with the optimum macroreticular resin was screened by total flavones product. The results indicated that the absorption capacity and elution ratio of HPD-600 type of macroporous resin were the best in these types of macroporous resin. The optimum extraction condition was the concentration and the flow velocity of the original solution were $3.81 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $1 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$. The eluant was 70% ethanol and the eluting velocity was $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$, The consumption of eluant was 3 BV.

[Key words] *Hypericum perforatum*, total flavones; macroreticular resin

贯叶连翘在我国民间已有 2 000 多年的药用历史^[1], 现代药理研究表明其具有抗抑郁、抗病毒、抗肿瘤、抗脑缺血等作用^[2]。贯叶连翘含有多种具有生物活性的化学成分, 主要含有苯并二萜酮类化合物、间苯三酚类化合物和黄酮类化合物^[3]。其中黄酮类化合物是其主要有效成分之一, 对心肌缺血和脑缺血具明显的预防和治疗作用^[4]。本研究应用大孔树脂分离纯化贯叶连翘总黄酮, 得到的优化工艺简单可行。

1 仪器与试药

TU-1901 型双波长紫外-可见分光光度计(北京普析仪器有限公司)。

贯叶连翘药材(于 2008 年 7 月采购自贵州安顺地区, 并经本校药学系杨建文教授鉴定为藤黄科金丝桃属多年生草本植物贯叶连翘); HPD-100, HDP-450、HDP-600 型大孔吸附树脂(沧州宝恩化工有限公司), NKA-9, AB-8, D-101 型大孔吸附树脂(南开大学化工厂); 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 100081-200306, 纯度 > 98%); 化学试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取在 120 干

[收稿日期] 2009-12-21

[通讯作者] * 王刚, Tel: 0852-8609461, E-mail: w98855350@163.com