

正交试验法研究茺蔚子提取工艺

郭宇洁, 马燕琼, 吴晓洋

(中国中医研究院西苑医院, 北京 100091)

摘要:目的: 优选茺蔚子的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验法, 以提取液中水苏碱含量为考察指标, 对影响茺蔚子提取工艺的因素进行了研究。结果: 实验设计三因素中提取次数有显著影响。结论: 茺蔚子的最佳提取工艺为: 用6倍量50%乙醇回流提取3次; 每次为2h。

关键词: 正交试验; 茺蔚子; 盐酸水苏碱; 提取工艺

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)02-0009-02

Studies on Process for Extraction of Fructus Leonuri by Orthogonal Experiments

GUO Yujie, MA Yan-qiong, WU Xiao-yang

(Xiyuan hospital China academy of traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China)

Abstract: Objective To optimize the condions for the extraction of Fructus leonuri. Methods Conditions for the extraction were studied by orthogonal experimental design as guided by the content of stachydrine present in the extract. Results Significant effect was observed in times of extraction. Conclusion The optimum condion of Fructus leonuri was to be in a stata of hot reflux with six times of 50% ethanol for there times, the time was 2h each time.

Key words: orthogonal experiments; Fructus leonuri; stachydrine; extraction process

茺蔚子为唇形科植物益母草 *Leonurus heterophyllus* Sweet 的干燥成熟果实, 具有活血调经、清肝名目的功效。茺蔚子总生物碱成分为茺蔚子的活性成分之一。总生物碱部分含有水苏碱(stachydrine)等成分^[1], 目前对茺蔚子总生物碱的提取工艺研究很少。为了制定科学经济的茺蔚子提取工艺, 同时保证成药的质量, 本文采用正交试验法对茺蔚子总生物碱的提取条件进行筛选, 确定了最佳的提取工艺。

1 仪器与药品

HP8453 分光光度计。盐酸水苏碱对照品(中国生物制品检定所); 茺蔚子药材(西苑医院药房提供); 硫氰酸铬铵(北京化工厂); 盐酸优级纯; 活性炭。

2 茺蔚子总碱的含量测定方法

2.1 对照品溶液的制备 精密称取盐酸水苏碱对照品 10.1mg, 置 25ml 量瓶中, 加入 0.1mol/L 盐酸溶液 15ml 使溶解, 备用。

2.2 供试品溶液的含量测定

2.2.1 供试品溶液的制备 精密吸取正交样品, 置蒸发皿中, 于水浴上蒸干, 精密加入 0.1mol/L 盐酸溶

液 15ml 使溶解(可适当超声溶解), 加活性炭 1.5g, 置水浴中加热半分钟, 搅拌, 滤过, 滤液置 25ml 量瓶中, 用 0.1mol/L 盐酸溶液分次洗洗蒸发皿和滤器, 洗液并入同一量瓶中, 备用。

2.2.2 供试品溶液的测定 另取 0.1mol/L 盐酸溶液 20ml, 置 25ml 量瓶中, 在对照品溶液、0.1mol/L 盐酸溶液及上述备用供试品溶液的量瓶中, 各精密加入新配制的 2% 硫氰酸铬铵溶液 3ml, 摇匀, 加 0.1mol/L 盐酸溶液至刻度, 摇匀, 置冰浴中放置 1h, 用干燥滤纸滤过, 取续滤液, 以 0.1mol/L 盐酸溶液为空白, 照分光光度法(附录 VB), 在 520nm 的波长处分别测定吸收度, 用空白试剂的吸收度分别减去对照品与供试品的吸收度, 计算, 即得。

3 提取溶媒和提取方法的选择

3.1 溶媒的选择 生物碱在水及乙醇中的溶解度都比较好, 所以进行了水煎和乙醇回流的比较。称取 18g 茺蔚子两份, 一份按照常规法水煎, 另一份以 50% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2h。分别吸取两者 40% 的提取液于蒸发皿中, 水浴蒸干, 精密加入 0.1mol/L 的盐酸溶液 15ml, 其余按照 2.2.1 和 2.2.2 项下的操作进行供试品溶液的制备和含量测定, 结果吸收度差值水煎: 0.3434; 乙醇回流: 0.4711。

乙醇回流的吸收度差值大,说明以盐酸水苏碱计的茺蔚子总生物碱含量高。以乙醇提取效果好,且出膏量低,故选择以乙醇来提取茺蔚子。

3.2 提取方法的比较 称取 18g 茺蔚子两份,一份以 6 倍量 50% 的乙醇回流提取 3 次,每次 2h。另一份以 6 倍量 50% 乙醇浸渍 3 次,每次 12h。分别吸取两者 40% 提取液于蒸发皿中,水浴蒸干,精密加入 0.1mol/L 的盐酸溶液 15ml,其余按照 2.2.1 和 2.2.2 项下的操作进行供试品溶液的制备和含量测定,结果吸收度差值乙醇浸渍: 0.1958; 乙醇回流: 0.4711。

乙醇回流吸收度差值大,说明以盐酸水苏碱计的茺蔚子总生物碱含量高。由于乙醇回流效果远远高于乙醇浸渍,所以选择以乙醇回流法来提取茺蔚子。

3.3 正交试验设计 选定乙醇浓度、提取次数和乙醇用量作为正交试验中需考察的 3 个因素,每个因素各取三个水平(见表 3)。采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,以提取液中水苏碱的含量为考察指标,因素设计见表 1。正交试验和结果见表 2,对表 4 中的结果进行统计学处理,得方差分析表(见表 3)。

表 1 试验因素水平表

因素水平	A 乙醇浓度(%)	B 提取次数	C 乙醇倍数
1	50	1	4
2	60	2	5
3	70	3	6

3.2 结果分析 表 3 结果说明各因素对提取效果的影响程度依次为 B> A> C。B 因素有显著影响 ($P < 0.05$); A 因素和 C 因素无显著影响。因此,各因素的最佳水平组合为 $A_1B_3C_3$,即以 6 倍量 50% 的乙醇,提取 3 次,每次 2h。

4 小结和讨论

根据实验结果,最终确定茺蔚子提取工艺如下:以 6 倍量 50% 的乙醇,提取 3 次,每次 2h。

表 2 正交试验方案和结果

试验 号码	A	B	C	D	茺蔚子总生物碱 含量(mg/g 药材)
1	1	1	1	1	1.3327
2	1	2	2	2	2.1794
3	1	3	3	3	2.6630
4	2	1	2	3	1.4001
5	2	2	3	1	2.1697
6	2	3	1	2	2.5890
7	3	1	3	2	1.3587
8	3	2	1	3	1.9023
9	3	3	2	1	2.0828
K_1	6.1753	4.0915	5.8240	5.5851	
K_2	6.1588	6.2514	5.6622	6.1271	$\sum = 17.6776$
K_3	5.3438	7.3348	6.1914	5.9654	$CT = 34.7221$
R	0.8312	3.2433	0.5292	0.5420	
S	0.1506	1.8176	0.0490	0.5162	

表 3 方差分析表

方差来源	平方和 S	自由度 f	均方和 MS	F
A	0.1506	2	0.0753	2.9927
B	1.8176	2	0.9088	36.1202*
$E = C + D$	0.0516	4	0.0252	

$$F_{1-0.05}(2, 2) = 19.00; F_{1-0.01}(2, 2) = 99.00$$

茺蔚子中生物碱以盐酸水苏碱($C_7H_{13}NO_2 \cdot HCl$)计是参照 2002 年药典第 237 页益母草项下的有关规定选择的。

参考文献:

- [1] 阴健. 中药现代研究与应用(第二册)[M]. 北京: 古籍出版社, 1995. 264.
- [2] 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 237.