

均匀设计法优选川贝母渗滤提取工艺

陈萍, 朱胤龙, 韦强, 李彤晖, 闫便节
(陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003)

摘要: 目的: 筛选川贝母渗滤提取最佳工艺条件。方法: 采用均匀设计安排试验, 以浸膏得率和西贝碱含量为考察指标, 数据经多元回归处理, 建立西贝碱的定量评价方法。对川贝母渗滤提取工艺中影响效果的乙醇浓度、乙醇用量、浸润时间三因素及条件进行优化, 根据回归方程并结合经验, 优选出川贝母渗滤提取工艺的最佳实验条件。结果: 川贝母用 14 倍量 65% 乙醇渗滤 7 小时的条件为最佳。

关键词: 川贝母渗滤提取工艺; 西贝碱; 均匀设计

中图分类号: 283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)03-0012-02

Optimum Extraction Process of *F. cirrhosa* D. Don. by Uniformity Design

CHEN Ping, ZHU Zi-long, WEI Qiang, LI Tong-hui, YAN Bian-jie

(Academy of Traditioanl Chinese Medicine of Shanxi province, Xi'an 710003, China)

Abstract Objective: To optimize the extraction of Sipeimine of *F. cirrhosa* D. Don. Methods: Taking content of Sipeimine as parameters. The optimum extraction process was selected with the $U_7(T^4)$ uniformity design. Results: The significant effects of alcohol concentration, alcohol volume and percolation time on the extraction of Sipeimine content were discovered. Conclusion: The optimum rhubarb percolation condition obtained was: adding 14-fold times of 65% alcohol and percolating for 7 hours. Sipeimine content $\geq 14.16\%$.

Key words: percolation process of *F. cirrhosa* D. Don.; Sipeimine content; Uniformity design

川贝母为百合科贝母属植物 *Fritillaria cirrhosa* D. Don. 的干燥鳞茎。具有清热润肺、化痰止咳的作用^[1], 用于治疗肺热燥咳、干咳少痰、阴虚劳咳及咯痰带血, 为常用药用之一。有效成分为贝母生物碱和甾体皂甙类, 西贝碱为其有效成分之一, 它们易溶于乙醇、甲醇等, 我们采用均匀设计安排试验, 现将渗滤提取工艺的研究报告如下:

1 实验材料

1.1 仪器、药品和试剂

DMS 200 型紫外可见分光光度计(美国 Varian 公司)。十万分之一分析天平(上海第一分析仪器厂), Galaxy 110 型万分之一电子天平(美国 OHAUS 公司)。电热恒温水浴锅(上海), DB211 型电热鼓风恒温烘箱。

1.2 川贝母药材由陕西省药材公司提供, 符合中国药典 2000 年版一部的规定。西贝碱标准品(批号: 0767-9403 供含量测定用, 由中国药品生物制品检定所提供); 所用试剂均为 A.R 级。水为二次蒸馏水。

2 实验方案

2.1 工艺条件选择 从渗滤提取工艺中影响效果的乙醇浓度、乙醇用量、浸润时间三个因素进行考察, 各因素的考察水平为 7, 取值范围见表 1。

2.2 因素水平的确定 根据文献资料, 运用均匀设计 $U_7(T^4)$ 表的安排进行渗滤提取试验。

表 1 川贝母渗滤提取工艺因素水平表 $U_7(T^4)$

水平	1	2	3	4	5	6	7
因素							
乙醇浓度(%)	50	60	65	70	75	80	85
乙醇用量(倍)	4	6	8	10	12	14	16
渗滤时间(h)	6	7	9	9	12	12	16

3 实验方法

3.1 样品浸膏得率测定 取粉碎为粗粉的川贝母 10.0g, 分别装于渗滤玻管中, 共 9 份。按 $U_7(T^4)$ 均匀表安排进行渗滤提取, 分别收集 1~9 号渗滤液, 过滤后, 回收乙醇, 浓缩至(1:1)后, 转入恒重后的蒸发皿中, 水浴蒸干, 于 105℃干燥恒重 3h, 移置干燥器中冷却 0.5h, 迅速精密称定重量。计算, 即得。结果见表 2。

浸膏得率按下式计算:

$$\text{浸膏得率}(\%) = \frac{W}{\text{取样量} \times 10} \times 100\%$$

W——所称浸膏净重(g)

3.2 西贝碱含量测定

3.2.1 标准品溶液的制备 精密称取西贝碱标准品适量,加甲醇溶解制成0.305mg/ml的溶液。

3.2.2 工作曲线的制作 精密吸取0.125、0.5、1.0、1.5原液,稀释至2.5ml,照分光光度法(中国药典2000版一部附录VA),于204nm处测定吸光值,以西贝碱对照品浓度为横坐标(X),吸光值为纵坐标(Y),经最小二乘法处理得标准曲线方程:

$$Y = 0.035X + 0.0953, r = 0.9899$$

浓度(μg/ml) X	12.25	61.0	122.0	183.0	305.0
吸收度 Y	0.115	0.294	0.579	0.767	1.132

结果:西贝碱在12.25~305.00μg/ml范围呈良好线性关系。

3.2.3 供试品溶液的制备及含量测定 将上述浸膏用甲醇充分溶解,并精密定量转移至100ml量瓶中,再分别超声处理30分钟,过滤,得1~9份甲醇溶液。精密吸取2ml 1~9号供试品溶液,分别置100ml容量瓶中,加甲醇至刻度。于204nm处分别测定供试品溶液吸收度,从标准曲线上读出西贝碱的含量,每个试验重复2次,取平均值,即得。结果见表2。

表2 试验安排及结果

试验号	A 乙醇浓度(%)	B 乙醇用量(ml)	C 渗漉时间(h)	考察批标(西贝碱含量)				
				浸膏得率(%)	实测值(μg/ml)	计算值(μg/ml)	相对误差(%)	西贝碱含量(%)
1	50	60	9	11.0	254.3			12.72
2	60	100	12	12.5	265.5	265.66	-0.16	13.28
3	65	140	7	14.0	283.2	283.04	0.055	14.16
4	70	40	12	5.0	240.5	239.91	0.245	12.03
5	75	80	6	6.0	258.5	260.53	-0.787	12.93
6	80	120	9	7.0	254.5	252.04	0.966	12.73
7	85	160	16	4.0	229.6	230.61	-0.441	11.48

3 结果

将试验结果进行多元回归处理,求得回归方程:
 $Y = 366.378 - 1.3671 \times X_1 + 0.2012 \times X_2 - 3.2348 \times X_3$ (X_1 -乙醇用量 X_2 -乙醇浓度 X_3 -渗漉时间),复相关系数 $R = 0.9967$, $S = 2.4078$, $F_0 = 101.27$, $F_{0.01} = 99.2$,故回归方程显著。

确定优化条件为:A=65%, B=140ml, C=7h,优化条件的预测值 $y = 283.04$,试验结果: $y = 287.06$,比7次试验得率均高。

为进一步对渗漉法的各项参数进行考察,我们进行了验证试验:根据表2结果,按上述优化条件安排4次试验,总浸膏收率为(8.0±0.39)%, $RSD 1.06\%$ ($n = 4$), $y = 286.92 \pm 2.3$, $RSD 1.98\%$ ($n = 4$)

将工艺放大10倍,称取100g川贝母生药粉,用65%乙醇拌和湿润并浸泡,18h后开始渗漉,溶剂用量14倍,流速为240ml/h,渗漉7h,定时记录渗漉液的累积量(每200ml测定1次吸光值),于204nm测定西贝碱的含量,以吸收度为纵坐标,以渗漉的累积量(体积)为横坐标绘制渗漉曲线,见下图:

结果:用4倍量(400ml)65%乙醇渗漉,提取完

全率可达95%。如舍去低含量部分,不仅可节省溶剂,减少提取时间,还可降低其它杂质含量。

4 讨论

本试验考察了乙醇浓度、乙醇用量、渗漉时间三因素对川贝母提取中西贝碱的影响,经回归处理,三因素的影响顺序为:加醇量>醇浓度>渗漉时间。

根据回归方程,结合实践,川贝母渗漉提取的最佳工艺为:准确称取处方量川贝母粗粉,用14倍量65%乙醇按渗漉法提取,浸泡18h,开始渗漉,渗漉时间7h,收集渗漉液,回收乙醇,药液浓缩至1:1后,低于60℃真空干燥,备用。

参考文献:

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中草药有效成分的研究[M]. 第一分册,北京:人民卫生出版社,1979. 176-202.
- [2] 赵德永. 4种川贝母的总皂甙、总生物碱及西贝素的含量测定[J]. 中国中药杂志,1994,19(2):71-73.
- [3] 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2000. 325.
- [4] 李瑞雪. 均匀设计在药物研究开发中的应用[M]. 成都:四川科学技术出版社,2000. 125.