

正交试验法优选肉苁蓉总苷的提取工艺

张雷红 邢建国 堵年生(乌鲁木齐 830054 新疆医科大学药学院)

管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa*)系列当科肉苁蓉属植物肉苁蓉干燥带鳞叶的肉质茎。具有补肾、益经血、通便之功效,素有“沙漠人参”的称号,是一味补肾壮阳的要药。有人统计,在历年增力处方中出现率占第1位,而在抗老防衰类方剂中仅次于人参居第2位。本文以肉苁蓉总苷粗粉为原料,制备肉苁蓉总苷胶囊,以主要成分肉苁蓉总苷含量为指标,采用正交试验法对提取工艺进行优选,选择最佳提取条件。

1 材料与仪器

管花肉苁蓉(购自新疆和田市医药公司,品种由新疆维吾尔自治区中药民族药研究所李佳政研究员鉴定),岛津 UV-250PC 紫外分光光度计,松果菊苷对照品(本教研室自制,UV、IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据符合文献值),所有试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 样品提取

称取管花肉苁蓉药材粗粉 10.0g,按表 1 进行实验设计。

表 1 因素水平表

因素水平	A 提取次数/次	B 提取时间/h	C 溶剂用量/倍
1	1	1	2
2	2	1.5	3
3	3	2	4

药材以水回流提取,合并提取液,浓缩后,加数倍量 95%乙醇放置过夜,倾出上清液,减压浓缩成浸膏(d=1.25~1.28),加一定量水溶解,通过大孔树脂柱,分别用水、95%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,浓缩至干,残渣加甲醇溶解并定容至 50ml,摇匀,备用。

2.2 苯乙醇总苷含量测定

2.2.1 标准曲线的制备 精密称取松果菊苷 20mg,置于 50ml 量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,备用。分别吸取备用液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 和 2.0ml,置于 25ml 量瓶中,以甲醇稀释至刻度,摇匀。在波长 333nm 处,以甲醇液作空白,测定吸收度。以浓度对吸收度回归,得回归方程: $C(\mu\text{g/ml}) = 37.60A - 0.03912$, $r = 0.9997$,结果表明浓度在 3.20~32.0 $\mu\text{g/ml}$

范围内呈良好的线性关系。

2.2.2 样品测定 分别精密吸取样品液 5ml 于 25ml 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀。吸取其中 1ml 于 25ml 量瓶中,甲醇稀释至刻度,以甲醇液为空白,在 333nm 波长处测定吸收度,代入标准曲线方程,计算样品中肉苁蓉总苷的含量(mg/g)。

2.3 结果

2.3.1 正交试验设计及结果 我们选择了提取物中主要有效成分肉苁蓉总苷的含量为考察指标,考察提取次数、提取时间和溶剂用量 3 个因素,每个因素选择 3 个水平,设计实验方案见表 1。选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,试验方案见表 2。

表 2 正交设计及试验结果

试验号	A1	B2	C3	4	试验结果 /mg·g
1	1	1	1	1	41.91
2	1	2	2	2	50.69
3	1	3	3	3	53.78
4	2	1	2	3	56.28
5	2	2	1	1	60.03
6	2	3	3	2	61.97
7	3	1	3	2	62.09
8	3	2	1	3	68.94
9	3	3	2	1	66.66
K ₁	146.38	160.28	172.82	168.60	
K ₂	178.28	179.69	173.63	174.75	
K ₃	197.69	182.41	175.90	179.00	
R	17.10	7.38	1.03	3.47	

2.3.2 结果分析 按立差分析理论得方差分析结果,见表 3。

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	447.46	2	233.73	25.6	<0.05
B	96.99	2	48.50	5.33	>0.05
C	1.71	2	0.86	0.094	>0.05
误差 SSe	18.21	2	9.21		

3 讨论

我们选取肉苁蓉中的主要有效成分肉苁蓉总苷的含量作为筛选提取工艺的指标,直观分析和方差分析结果表明,因素 A 对苯乙醇总苷的含量有显著的影响

($p < 0.05$),因素 B 和因素 C 则有一定的影响,各因素作用大小为 $A > B > C$,最佳组合为 $A_3B_3C_3$ 。因此,优选出最佳工艺为:水提取 3 次,每次 2h,4 倍量 95%乙醇醇沉。