

基于多指标综合评价 胡黄连提取工艺研究*

侯文彬,周福军,单 淇,刘昌孝

摘要:[目的]通过正交设计筛选胡黄连的提取工艺,优化出最佳工艺参数。[方法]以提取液中胡黄连苷Ⅰ、Ⅱ转移率及出膏率的加和进行综合评价,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验优选最佳提取工艺。[结果]胡黄连最佳提取工艺为原药材最粗粉浸泡24 h,以每分钟1.5 mL的流速渗漉,收集16倍量的渗漉液。[结论]优选的胡黄连提取工艺合理可行,为实际生产提供参考。

关键词:胡黄连;正交实验;胡黄连苷Ⅰ;胡黄连苷Ⅱ;渗漉提取

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1673-9043(2013)03-0154-03

胡黄连(*Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell)是一味常用中药,为历版中国药典所收载,有清湿热、除骨蒸、消痞热之功,主治湿热泄痢、黄疸、痔疾、骨蒸潮热、小儿疳热等^[1]。胡黄连主要有环烯醚萜类、葫芦素类、苯乙醇糖苷类和酚苷类,其中以环烯醚萜类含量为主^[2],环烯醚萜类由胡黄连苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ等苷类成分组成,即胡黄连总苷,该类成分具有明确的保肝、抗肝损伤作用。本课题组研制的中药五类新药胡黄连总苷,采用急、慢性脂肪肝动物模型的研究表明,胡黄连总苷提取物具有清肝脂、降血脂、降低转氨酶、清除自由基、抗脂质过氧化、增强免疫、保护肝脏的作用,用于预防和治疗酒精性和非酒精性脂肪肝,以及急性脂肪肝或慢性脂肪肝,进而防止肝纤维化的形成^[3-5]。因此本实验对胡黄连苷Ⅰ、Ⅱ的提取工艺进行了研究,现报道如下。

1 仪器与试药

仪器:戴安P680HPL液相色谱仪(美国戴安公司生产),变色龙色谱工作站。试药:乙腈(Fisher化学试剂公司 色谱纯),冰醋酸(天津市凯信化学工

*基金项目:国家科技支撑计划基金项目(2007BA141B06)。

作者单位:300193 天津中医药大学(侯文彬)

300193 天津药物研究院 天津市中药质量控制技术工程实验室,中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室(侯文彬,周福军,单 淇)
300193 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室(刘昌孝)

作者简介:侯文彬(1969—),男,博士,研究员,主要从事中药新药研发。

通讯作者:刘昌孝,E-mail:liucx@tjpr.com。

业有限公司 分析纯),甲醇(天津市康科德科技有限公司 分析纯)。胡黄连苷Ⅰ、Ⅱ对照品(中国生物制品检定所),胡黄连苷Ⅰ(批号111727-200501),胡黄连苷Ⅱ(批号111596-200301)。胡黄连(河北省安国市祁澳饮片厂,批号70816001)。

2 方法和结果

2.1 评价指标的测定

2.1.1 出膏率的测定 精密吸取提取液25 mL,置已干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干,放至室温后精密称质量,计算出膏率。

2.1.2 胡黄连苷Ⅰ、Ⅱ含量测定 色谱条件^[6]:色谱柱:Luna C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相:甲醇-水-磷酸(35:65:0.1),流速:1.2 mL/min,柱温:35℃,检测波长:275 nm。

对照品溶液的制备:精密称取胡黄连苷Ⅰ对照品和胡黄连苷Ⅱ对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.125 mg胡黄连苷Ⅰ和0.25 mg胡黄连苷Ⅱ的溶液,即得对照品贮备液。精密移取对照品贮备液4 mL,置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液的制备:精密吸取各提取液1 mL,置50 mL量瓶中,精密加入水至刻度,密塞,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

测定法:样品含量测定在上述色谱条件下,进样10 μL,记录峰面积,以外标一点法计算含量。

转移率计算公式:

胡黄连苷Ⅰ或胡黄连苷Ⅱ的转移率=
$$\frac{\text{胡黄连苷Ⅰ或胡黄连苷Ⅱ含量} \times \text{渗漉液量}}{\text{药材含量} \times \text{药材质量}} \times 100\%$$

2.2 正交实验设计 为了确定最佳的提取参数,选用正交实验法,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表,分别以出膏率和胡黄连中胡黄连苷 I、II 含量为考察指标,对渗漉溶剂用量、浸泡时间及渗漉速度 3 个因素进行考察,每个因素选取 3 水平,采用正交实验综合评价优选其最佳提取工艺。正交实验因素水平见表 1,综合评分各指标权重见表 2。

表 1 渗漉工艺条件考察正交实验因素水平表

因素水平	A 因素	B 因素	C 因素
	溶剂用量(倍量)	浸泡时间(h)	流速(mL/min)
1	8	6	0.5
2	12	12	1.0
3	16	24	1.5

表 2 胡黄连提取工艺综合评分指标

指标	权重(%)	满分	得分
出膏率	20	20	$Y_{11}=(Y_1/42.8\%)\times 20$
胡黄连苷 I 转移率	40	40	$Y_{12}=(Y_2/90.1\%)\times 40$
胡黄连苷 II 转移率	40	40	$Y_{13}=(Y_3/89.4\%)\times 40$
综合评分	100	100	$Y_i=Y_{11}+Y_{12}+Y_{13}$

2.2.1 渗漉工艺的正交实验 分别称取药材(含量:胡黄连苷 I 为 3.08%,胡黄连苷 II 为 6.40%)最粗粉 9 份,每份 50 g,加 4 倍量水润湿后装入渗漉筒内,按表 1 的正交实验设计进行渗漉,考察各因素对出膏率和胡黄连苷 I、II 提取效率的影响,分别以出膏率、胡黄连苷 I、II 的转移率为评价指标筛选最佳工艺,以表 2 方法计算综合评分,结果见表 3,方差分析结果见表 4。

2.2.2 正交实验结果分析 结果表明,方差分析和直观分析结果表明,各因素作用主次为 $A>B>C$,A 因素的影响具有统计学意义($P<0.05$),以 A_3 为佳,

表 3 渗漉工艺条件考察正交实验表及结果 $L_9(3^4)$

因素试验号	A	B	C	D	实验结果			
	溶剂用量	浸泡时间	流速	空白	苷 I 转移率(%) Y_1	苷 II 转移率(%) Y_2	出膏率(%) Y_3	综合评分 Y_i
1	1	1	1	1	59.7	57.2	36.4	69.10
2	1	2	2	2	65.9	62.9	37.5	74.92
3	1	3	3	3	75.7	72.0	38.9	84.00
4	2	1	2	3	80.2	77.6	39.5	88.78
5	2	2	3	1	82.3	78.8	40.2	90.58
6	2	3	1	2	83.8	80.8	40.9	92.47
7	3	1	3	2	86.8	85.0	41.2	95.82
8	3	2	1	3	89.2	86.0	42.8	98.08
9	3	3	2	1	90.1	89.4	41.6	99.43

表 4 胡黄连提取工艺方差分析结果

误差来源	A	B	C	误差
1	738.551 4	82.470 8	20.058 4	23.710 6
n'	2	2	2	2
MS	1 477.102 7	164.941 5	40.116 8	47.421 1
F	31.15	3.48	0.85	
P	<0.05	>0.1	>0.1	

故选择 $A_3B_3C_3$ 为最佳工艺,即 50 g 药材最粗粉浸泡 24 h,以每分钟 1.5 mL 的流速渗漉,收集 16 倍量的渗漉液。

2.2.3 最佳工艺验证实验 称取药材 50 g 3 份,进行重复验证实验,按照上述最佳工艺制备 3 批药材水提取物,胡黄连苷 I、II 的平均转移率分别为 90.54%、90.31%,结果见表 5。

表 5 渗漉工艺验证实验结果表

药材量(g)	浸膏量(g)	苷 I 含量(%)	苷 I 转移率(%)	苷 II 含量(%)	苷 II 转移率(%)
50	20.2	6.82	89.46	14.11	89.08
50	21.5	6.48	90.47	13.63	91.58
50	20.8	6.79	91.71	13.89	90.30

结果表明正交实验优选的渗漉提取工艺条件较好,结果稳定可靠。综合以上的研究结果,确定提取工艺:将胡黄连药材粉碎成最粗粉,称取一定量的药材最粗粉,加 4 倍量的水润湿 1 h 后,装入渗漉筒中,加水浸泡 24 h。加水以每分钟 1.5 mL 的流速渗漉,收集 16 倍量的渗漉液。

3 讨论

3.1 评价指标的选择 本实验以出膏率及胡黄连苷 I、II 的含量进行综合加权评分进行评价,出膏率虽然不能完全反映有效成分含量的多少,但是它在一定程度上可以作为选择剂型的参考指标和考查工艺水平的评价指标。胡黄连总苷在药典中采用比色法进行测定,误差较大,采用高效液相色谱法(HPLC 法)检测胡黄连中的主要活性成分胡黄连苷 I、II 的量减小了误差,因此胡黄连苷 I、II 的含量可作为提取工艺的评价指标。综合考虑各指标对提取效果的贡献率,确定权重:出膏率占 20%,胡黄连苷 I、II 的转移率各占 40%,将两者进行加权综合评分作为提取工艺的评价指标,较单一评价指标更具科学性、合理性。

3.2 单一因素考察 本实验在进行正交实验之前

对单一因素的影响进行了考察,结果如下。

3.2.1 提取溶剂选择 以胡黄连苷 I、II 的提取转移率等指标,考察了水、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇和 90%乙醇等溶剂对药材的浸提效果,结果见表 6。

表 6 提取溶剂考察表

溶剂	浸膏率 (%)	苷 I 含量 (%)	苷 II 含量 (%)	苷 I 转移率 (%)	苷 II 转移率 (%)
水	37.7	6.5	14.1	79.4	83.0
30%乙醇	34.4	6.3	14.6	70.3	78.5
50%乙醇	37.1	5.7	13.7	68.7	79.4
70%乙醇	33.9	5.5	13.3	60.5	70.4
90%乙醇	29.1	5.6	14.8	52.9	67.1

注:50 g 药材,室温,10 倍量溶剂×6 h×2 次。

实验结果表明,以水为提取溶剂时,胡黄连苷 I、II 的提取转移率均最高,提取效果好,浸膏量相对不同浓度的乙醇溶剂增加不显著,因此选择水为提取溶剂是合理的。

3.2.2 提取方法选择 考察了以水为提取溶剂,采用温浸(70℃,6 h×3 次)、煎煮(2 h×3 次)、渗漉等提取方法对药材最粗粉进行提取对胡黄连苷 I、II 提取效率的影响。结果见表 7。

实验结果表明,3 种方法提取胡黄连苷 II 的效果相近,渗漉法稍好于其他 2 种方法。但对胡黄连苷 I 而言,渗漉法的提取转移率明显优于其他 2 种方法,由于以胡黄连苷 I 为代表的很多环烯醚萜成

表 7 提取方式考察表

提取方法	浸膏量 (%)	苷 I 含量 (%)	苷 II 含量 (%)	苷 I 转移率 (%)	苷 II 转移率 (%)
温浸	35.8	5.7	14.7	66.2	82.1
煎煮	38.6	5.5	14.2	67.9	85.5
渗漉	37.6	7.0	14.7	84.3	86.6

注:50 g 药材,15 倍量溶剂。

分在水中的热稳定性差,因此提取时宜选择条件温和的渗漉方法。

4 结论

此方法操作简便,仪器设备简单,且所用溶剂污染小,生产成本低。因此,此方法稳定、可行,适用于工业化生产,可作为胡黄连的提取工艺。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 刘志春.西藏胡黄连的化学成分研究进展[J].药学实践杂志,2010,28(5):321-323.
- [3] 侯文彬,赵专友,周福军,等.胡黄连总苷提取物在制备用于预防和治疗脂肪肝药物中的用途[P].中国:CN102462772A,2010-11-05.
- [4] 李爽,崔永康,黄兰蔚,等.胡黄连总苷 II 对大鼠肝纤维化的治疗作用[J].现代中西医结合杂志,2010,19(15):1845-1847.
- [5] 阎雪莹,刁磊,唐晓飞,等.胡黄连提取物的含量测定及其肝保护作用[J].中医药学报,2009,37(6):13-15.

(收稿日期:2013-04-27)

Evaluation of extracted art of Rhizoma Picrorhizae based on multiple criteria comprehensively

HOU Wen-bin^{1,2}, ZHOU Fu-jun², SHAN Qi², LIU Chang-xiao³

(1.Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2.Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin Engineering Laboratory of Quality Control Technology of TCM, National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin), Tianjin 300193, China; 3.Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To optimize the extraction process of Rhizoma Picrorhizae by an orthogonal experiment and to determine the best extraction parameters. [Methods] The L_9 (3^4) orthogonal test was employed based on a multiple criteria comprehensively evaluating the yields of picroside I, picroside II, and total extracts. [Results] The optimum extraction process was characterized as: soaking the crude rhizome powders for 24 h and percolating them with 1.5 mL/min of the flow rate and 16 folds of extraction volume were collected. [Conclusion] The extraction technique is stable and available. This study provides an experimental basis for the industrial production of Rhizoma Picrorhizae.

Key words: Rhizoma Picrorhizae; orthogonal test; picroside I; picroside II; percolation