

# 正交试验优选连翘提取工艺

孔燕芳<sup>1\*</sup>, 吴彩丽<sup>2</sup>, 段晓颖<sup>2</sup>(1.深圳健安医药有限公司, 广东深圳 518027; 2.河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0230-02  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.13

**摘要** 目的: 优选连翘提取工艺。方法: 以连翘苷转移率和干膏得率为评价指标, 以加水量、煎煮时间和煎煮次数为考察因素, 采用正交试验优选工艺。结果: 连翘的最佳提取工艺为加8倍量水, 煎煮3次, 每次2 h。结论: 所选工艺合理、可行, 可作为连翘的提取工艺。

**关键词** 连翘; 连翘苷; 正交试验; 高效液相色谱法

## Optimization of the Extraction Technology of *Forsythia suspensa* by Orthogonal Design

KONG Yan-fang<sup>1</sup>, WU Cai-li<sup>2</sup>, DUAN Xiao-ying<sup>2</sup>(1. Shenzhen Jian'an Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Shenzhen 518027, China; 2. The First Affiliated Hospital of Henan Collage of TCM, Zhengzhou 450000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of *Forsythia suspensa*. METHODS: The orthogonal test was used to optimize the extraction technology with amount of water, decocting time and decocting times as factors using the transfer rate of phillyrin and extract yield as index. RESULTS: The optimum condition was as follows: adding 8 times amount of water, extracting for 3 times, 2 hour for each time. CONCLUSION: The extraction technology is reasonable and feasible, and it can be used as extraction technology of *F. suspensa*.

**KEY WORDS** *Forsythia suspensa*; Phillyrin; Orthogonal test; HPLC

连翘是木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实。秋季果实初熟尚带绿色时采收, 除去杂质, 蒸熟, 晒干, 习称“青翘”; 果实熟透时采收, 晒干, 除去杂质, 习称“老翘”。其性微寒, 味苦, 有清热解毒、消肿散结、疏散风热之功, 用于治疗痈疽、乳痈、丹毒、风热感冒、温病初起、温热入营、高热烦渴、神昏发斑、热淋涩痛等证。连翘主要含有木脂素类、苯乙醇苷类、黄酮类、三萜类及挥发性成分。木脂素类

成分是其较早被认识的一类活性成分, 主要有连翘苷、连翘酯苷、牛蒡子苷元、牛蒡子苷等<sup>[1]</sup>, 其中连翘苷是代表性成分, 也被《中国药典》作为连翘质量标准的指标性成分。本试验以连翘苷转移率和干膏得率为指标, 采用正交试验优选连翘的水提取工艺。

### 1 材料

LC-10A 高效液相色谱 (HPLC) 仪 (日本岛津公司);

试验选取因素时, Box-Behnken 效应面和正交试验设计两种方法均提取了“料液比”和“提取时间”两个影响因素作为考察对象, 这样就避免了片面单一的因素筛选, 使工艺更加合理。

国内文献对于提取工艺的研究报道大多采用均匀试验设计和正交试验设计, 然而这些试验设计大都是基于线性模型设计的方法。事实上, 大部分试验因素与效应值之间并不是简单的线性模型, 如果直接用线性模型来拟合它们之间的关系, 就会造成预测值与理论值之间很大偏差, 试验精度不高<sup>[2]</sup>。响应面分析法采用多元二次回归的方法, 将各因子指标的相互关系用多项式近似拟合, 通过对函数响应面和等高线的分析, 能够精确地研究各因子与响应值之间的关系<sup>[3]</sup>; 同时, 基于非线性模型进行的试验设计, 试验精度显著优于一般线性模型设计方法, 它已经广泛应用于药材提取工艺。Plackett-Burman 是基于因素间无交互影响时, 优选因素主效应而进行的多因素、高、低两个水平的试验设计, Box-Behnken 效应面设计是基于三水平的二次式试验设计, 该设计具有可旋转性, 因此试验精

度较高<sup>[4]</sup>。同时, 对于三因素试验设计, Box-Behnken 效应面设计与其他效应面方法如 Central Composite Design (CCD) 比较, 试验次数较少, 优越性更明显。Plackett-Burman 联用 Box-Behnken 效应面设计可以在提高试验精度的基础上, 进一步提高试验的预测性。

### 参考文献

- [1] 包柏林, 王忠壮. 棘茎楸木的资源学和生药学研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(6): 508.
- [2] 任风芝, 栾新慧, 屈会化. 楸木属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 广州化工, 2000, 28(4): 130.
- [3] 刘泽玉, 苏柘僮, 杨明, 等. 联用 Plackett-Burman 与 Box-Behnken 设计控制青黛制备过程中靛玉红的生成[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2 555.
- [4] 徐金龙, 张红梅, 徐秀泉. 响应面分析法优化牡丹皮中总黄酮的提取工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(27): 2 538.
- [5] 吴伟, 崔光华, 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学药学分册, 2000, 27(5): 296.

(收稿日期: 2012-02-13 修回日期: 2012-05-14)

\* 讲师, 硕士。研究方向: 临床药理。电话: 0755-82101886-363。  
E-mail: kay24680@163.com

CP225D电子天平(德国赛多利斯公司)。

连翘苷对照品(四川维克奇生物制品有限公司,批号:201006);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

连翘饮片,购于安徽亳州,经河南中医学院第一附属医院药检室鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验设计

选择影响提取工艺的主要因素,即加水量(A)、煎煮次数(B)、煎煮时间(C)作为考察因素,每个因素选择3个水平,以连翘苷转移率和干膏得率为评价指标,用 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排试验。因素水平见表1。

表1 因素水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A,倍	B,次	C,h
1	8	1	1.0
2	10	2	1.5
3	12	3	2.0

### 2.2 连翘苷转移率的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent XDB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(24:76, V/V);流速:1 ml/min;检测波长:277 nm;柱温:25 ℃。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取连翘苷对照品适量,加甲醇制成每1 ml含连翘苷24.2 μg的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密吸取正交试验表下各提取液10 ml,置蒸发皿中水浴蒸至2~3 ml,用甲醇溶解并转移至10 ml量瓶中,定容,摇匀,即得。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取连翘苷对照品溶液9、12、15、18、21 μl,分别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以峰面积积分值(Y)为纵坐标,连翘苷进样量(X, μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $Y=704.715X-7471.3$ ( $r=0.9999, n=5$ )。结果表明,连翘苷进样量在0.2178~0.5082 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.2.5 测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μl,注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定,以外标法计算连翘苷的质量浓度,并按下式计算提取液中连翘苷的转移率:连翘苷转移率=提取液中连翘苷质量浓度×提取液体积/(饮片取样质量×饮片连翘苷质量分数)×100%。

### 2.3 干膏得率的测定

精密量取各提取液25 ml,置蒸发皿中水浴蒸干,减压干燥,精密称定质量,按下式计算干膏得率:干膏得率=干膏质量/饮片取样质量×100%。

### 2.4 正交试验方法与结果

称取连翘9份,每份200 g,按表1中安排进行提取,提取液备用。按“2.2”、“2.3”项下方法测定各提取液中连翘苷转移率和干膏得率,并优选提取工艺。正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

由表2、表3可知,煎煮次数对连翘苷转移率和干膏得率有极显著性影响( $P<0.01$ ),煎煮时间对连翘苷转移率有显著性影响( $P<0.05$ )。煎煮次数和煎煮时间的第3水平较第1、2水平更优,故选择B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>。加水量对工艺无显著性影响,出于节省能源的考虑,选择第1水平,即A<sub>1</sub>。综合考虑影响提取的各种因素,确定最佳工艺为加8倍量水,煎煮3次,每次2 h。

## 3 讨论

由于在此次试验中的最佳工艺正好是正交试验中的3号

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	连翘苷转移率, %	干膏得率, %
1	1	1	1	1	28.7	10.5
2	1	2	2	2	71.4	18.0
3	1	3	3	3	98.1	26.9
4	2	1	2	3	35.3	10.2
5	2	2	3	1	91.4	19.6
6	2	3	1	2	87.7	25.7
7	3	1	3	2	51.2	12.1
8	3	2	1	3	70.4	16.8
9	3	3	2	1	95.9	24.5
连翘苷转移率	I	198.20	115.20	186.70	216.00	
	II	214.30	233.25	202.63	210.34	G=630.1
	III	217.55	281.67	240.69	203.78	CT=44 114.0
	SSj	71.162	4 887.430	511.321	24.973	
干膏得率	I	55.4	32.8	53.0	54.6	
	II	55.5	54.4	52.7	55.8	G=164.3
	III	55.4	77.1	58.6	53.9	CT=2 999.4
	SSj	0.94	327.15	7.36	0.63	

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

指标	方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
连翘苷转移率	A	71.62	2	35.81	2.88	
	B	4 888.72	2	2 444.76	196.79	$P<0.01$
	C	511.83	2	255.91	20.60	$P<0.05$
	D(误差)	24.84	2	12.42		
干膏得率	A	0.94	2	0.47	1.47	
	B	327.15	2	163.58	531.47	$P<0.01$
	C	7.36	2	3.68	11.50	
	D(误差)	0.63	2	0.32		

注:  $F_{0.05}(2, 2)=19.00$ ;  $F_{0.01}(2, 2)=99.00$

note:  $F_{0.05}(2, 2)=19.00$ ;  $F_{0.01}(2, 2)=99.00$

试验,因此未进行工艺验证试验。

连翘苷是双木脂素类化合物的葡萄糖苷,难溶于水,溶于乙醇、甲醇等有机溶剂<sup>[2]</sup>。本试验结果表明,连翘苷在水煎煮3次,每次2 h的条件下,其转移率却可达98%,原因可能是化学成分溶解度的测定一般是在(25±2) ℃条件下,而本工艺是采用沸水煎煮,连翘苷的溶解度在100 ℃条件下增加较为显著。连翘在复方中常采用煎煮法<sup>[3]</sup>,连翘单独提取采用乙醇回流法的文献报道较多<sup>[4-6]</sup>。而本试验结果表明,水煎煮法同样可以使连翘苷的转移率达到要求,该方法可以降低连翘提取成本,因此具有较高的实用性。

## 参考文献

- [1] 朴香兰,田燕泽.连翘木脂素类成分研究现状[J].时珍国医国药,2010,21(8):2 021.
- [2] 姚新生.天然药物化学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2003:120.
- [3] 赵良义,谢晓燕,邵艳新,等.辛芷喷雾剂质量标准研究[J].中国药房,2007,18(18):1 391.
- [4] 黄桂丽,王彩云.连翘提取工艺研究[J].吉林医药学院学报,2008,29(6):323.
- [5] 胡光,姚志娟.正交试验法优选乙醇提取连翘苷的工艺研究[J].黑龙江医药,2005,18(2):41.
- [6] 涂秋云.连翘木脂素的分离制备新工艺及其药效研究[D].长沙:中南大学化学化工学院,2008.

(收稿日期:2012-09-18 修回日期:2012-11-12)