

正交试验优选蔷薇红景天的提取工艺[△]

姚敏娜^{1*},周晓明^{1,2},马宁¹,张伟¹,窦芳¹,汤海峰^{1#}(1.第四军医大学西京医院药剂科,西安 710032;2.解放军第94162部队,西安 710614)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2911-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.11

摘要 目的:优选蔷薇红景天的提取工艺。方法:以乙醇浓度、溶剂用量、提取时间和提取次数为考察因素,以红景天苷含量、酪萨维含量、浸膏得率的综合评分为评价指标,采用正交试验优选蔷薇红景天的最佳提取工艺。结果:最佳提取工艺为用10倍量85%乙醇,提取3次,每次1.5 h。结论:优选的工艺简单、可行,可用于蔷薇红景天的提取。

关键词 蔷薇红景天;红景天苷;酪萨维;提取工艺;正交试验

Optimization of the Extraction Technology of *Rhodiola rosea* by Orthogonal Test

YAO Min-na¹, ZHOU Xiao-ming^{1,2}, MA Ning¹, ZHANG Wei¹, DOU Fang¹, TANG Hai-feng¹(1.Dept. of Pharmacy, Xijing Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2.No.94162 Troops of PLA, Xi'an 710614, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of *Rhodiola rosea*. METHODS: The extraction technology of *R. rosea* was optimized by orthogonal test using ethanol concentration, solvent volume, extraction time and extraction times as factors with the content of salidroside and rosavin, the yield of extract as index. RESULTS: The optimum extraction process was as follows: adding 10-fold 85% ethanol, extracting for 3 times, 1.5 hours each time. CONCLUSIONS: The method is simple and feasible, which can be used for the extraction of *R. rosea*.

KEY WORDS *Rhodiola rosea*; Salidroside; Rosavin; Extraction technology; Orthogonal experiment

蔷薇红景天为景天科植物蔷薇红景天 *Rhodiola rosea* L. 的干燥根及根茎,具有滋补强壮、安神益智、开通阻滞、消炎止痛之功效^[1]。现代药理学研究表明,蔷薇红景天具有抗疲劳、抗缺氧、延缓衰老以及对心脑血管、中枢神经系统有调节和保护作用^[2]。红景天苷和特有物质酪萨维是蔷薇红景天的主要有效成分^[3],也是评价蔷薇红景天及其提取物优劣的重要指标。近年来,有关景天科其他属植物中红景天苷的提取工艺文献报道较多^[4],但对本属蔷薇红景天提取工艺少有报道。因此,笔者以蔷薇红景天中红景天苷和酪萨维含量以及浸膏得率为指标,较全面地考察其提取工艺,为进一步开发蔷薇红景天制剂提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1200 高效液相色谱仪、G131413 紫外检测器(美国安捷伦公司);BS110S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);KQ5200DE 型数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

红景天苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110758-200908);酪萨维标准品(成都曼斯特科技有限公司,批

号:A0078,纯度:99.5%);乙腈、甲醇(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

1.3 药材

蔷薇红景天药材,购于陕西嘉禾植物有限公司,由陕西嘉禾植物有限公司惠玉虎研究员鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 因素水平的选择

根据相关文献资料^[5]及预试验,笔者采用乙醇为溶剂提取蔷薇红景天中的有效成分,发现影响提取效率的主要因素为乙醇浓度、溶剂用量、提取时间和提取次数。故选取乙醇浓度(A)、溶剂用量(B)、提取时间(C)、提取次数(D)为考察因素,按L₉(3⁴)正交表进行试验。因素与水平见表1。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, %	B, 倍	C, h	D, 次
1	65	6	1	1
2	85	8	1.5	2
3	95	10	2	3

2.2 红景天苷和酪萨维的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent TC-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流速:1 ml/min;流动相:乙腈-水(红景天苷, 7:93, V/V)、乙腈-0.2%磷酸(酪萨维, 14:86, V/V);检测波长:254 nm(红景

△ 基金项目:国家重大新药创制基金资助(No.2009ZXJ09004-082)

* 药师,硕士。研究方向:天然药化和新药研发。电话:029-84775471。

E-mail:yaona3698@163.com

通信作者:教授,博士研究生。研究方向:天然药化和新药研发。电话:029-84775471。E-mail:natprod@163.com

天苷)、223 nm(酪萨维);柱温:35℃。色谱见图1。

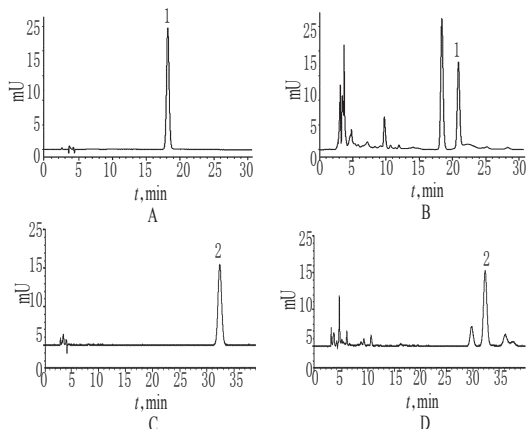


图1 高效液相色谱图

A. 红景天苷对照品; B、D. 供试品; C. 酪萨维标准品; 1. 红景天苷; 2. 酪萨维

Fig 1 HPLC chromatograms

A. salidroside control; B, D. test sample; C. rosavin control; 1. salidroside; 2. rosavin

2.2.2 对照品溶液的制备 (1)红景天苷对照品溶液的制备:精密称取红景天苷对照品1.01 mg,加甲醇制成每1 ml含0.101 mg的溶液,作为红景天苷对照品溶液。(2)酪萨维标准品溶液的制备:精密称取酪萨维标准品2.5 mg,用甲醇定容于25 ml量瓶中,作为酪萨维标准品贮备液,精密移取酪萨维标准品贮备液2 ml于10 ml量瓶中,用甲醇定容,制成每1 ml含0.02 mg的溶液,作为酪萨维标准品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取干燥蔷薇红景天细粉(过80目筛)25 g,按正交表进行提取试验,提取药液分别回收乙醇至无醇味,转移至50 ml量瓶中,加水稀释至刻度,精密移取浓缩液适量,置10 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,以0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.4 标准曲线的制备 (1)红景天标准曲线的制备:精密吸取红景天苷对照品溶液适量,进样1、3、5、7、10 μl,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。以进样量(x, μg)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=1417x-1.479$ ($r=0.9999$)。结果表明,红景天苷进样量在0.101~1.01 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。(2)酪萨维标准曲线的制备:精密移取酪萨维标准品贮备液0.5、1、2、4、6、10 ml于10 ml量瓶中,甲醇定容,摇匀,进样10 μl,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。以进样量(x, μg)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=2 \times 10^6 x + 9966$ ($r=0.9999$)。结果表明,酪萨维进样量在0.05~1.0 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.3 浸膏得率的测定

精密移取“2.1.3”项下50 ml量瓶中的浓缩液10 ml,置蒸发皿中,水浴蒸干,于105℃下干燥3 h,移至干燥器中,冷却30 min,迅速称质量,按下式计算浸膏得率:浸膏得率=浸膏质量×5/药材质量×100%。

2.4 正交试验方案与结果

根据试验设计进行提取,将各提取液按“2.2”项下方法测定红景天苷和酪萨维的含量,并照“2.3”项下方法计算浸膏得率,以红景天苷含量、酪萨维含量、浸膏得率为指标,3个指标的权重系数分别为0.4、0.4、0.2,按下式计算综合评分:综合评

分=40×红景天苷质量分数/红景天苷质量分数最大值+40×酪萨维质量分数/酪萨维质量分数最大值+20×浸膏得率/浸膏得率最大值)。由此筛选最佳提取工艺。正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	红景天苷质量分数, %	酪萨维质量分数, %	浸膏得率, %	综合评分
1	1	1	1	1	0.120	0.277	7.37	50.00
2	1	2	2	2	0.162	0.396	10.55	70.00
3	1	3	3	3	0.188	0.457	16.48	86.07
4	2	1	2	3	0.287	0.428	12.42	92.56
5	2	2	3	1	0.165	0.324	7.82	60.91
6	2	3	1	2	0.188	0.380	11.37	73.29
7	3	1	3	2	0.197	0.342	5.59	64.25
8	3	2	1	3	0.212	0.361	6.13	68.64
9	3	3	2	1	0.188	0.280	5.36	57.19
K_1	68.69	68.94	63.98	56.03				
K_2	75.59	66.52	73.25	69.18				
K_3	63.36	72.18	70.41	82.42				
R	12.23	5.67	9.27	26.39				

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

因素	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	225.46	2	112.73	4.65	
B(误差)	48.51	2	24.26	1.00	
C	135.45	2	67.73	2.79	
D	1044.65	2	522.33	21.54	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

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

由表2、表3可知,各因素影响程度依次为 $D > A > C > B$,即提取次数>乙醇浓度>提取时间>溶剂用量;提取次数对红景天苷含量、酪萨维含量、浸膏得率有显著性影响($P < 0.05$)。综合分析,以 $A_2B_3C_2D_3$ 为最佳工艺,即加入10倍量85%乙醇,提取3次,每次1.5 h。

2.5 工艺验证试验

分别称取3份蔷薇红景天粗粉各50 g,按上述最佳提取工艺提取,按“2.1.3”项下方法制备3份供试品溶液,并测定红景天苷、酪萨维的含量及浸膏得率。结果,红景天苷的平均质量分数为0.291%, $RSD = 1.91\%$ ($n = 3$);酪萨维的平均质量分数为0.454%, $RSD = 0.37\%$ ($n = 3$);平均浸膏得率13.74%, $RSD = 0.37\%$ ($n = 3$),表明所选工艺合理、可行。工艺验证试验结果见表4。

表4 工艺验证试验结果

Tab 4 Results of verification test

试验号	红景天苷质量分数, %	酪萨维质量分数, %	浸膏得率, %
1	0.285	0.452	13.70
2	0.292	0.453	13.73
3	0.296	0.456	13.80

3 讨论

采用多指标综合评分法进行工艺优选时,对不同指标给出合适的权重是一个关键的问题。选择不同的权重,很可能出现不同的评价结果。由于红景天苷和酪萨维是蔷薇红景天的主要有效成分,浸膏得率也是常用的评价指标,根据实际情况并参照常用比例,故将红景天苷含量、酪萨维含量、浸膏得

混合均匀试验优选消脂保肝胶囊中药材的提取工艺[△]

张振巍*,李月梅#,许真真(解放军第155中心医院,河南 开封 475003)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2913-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.12

摘要 目的:优选消脂保肝胶囊中药材的提取工艺。方法:以出膏率和总蒽醌含量为评价指标,以加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素,采用 $U_6(6 \times 3^2)$ 混合均匀设计优选消脂保肝胶囊中药材的提取工艺。结果:最佳提取工艺为药材加18倍量水,煎煮3次,每次3 h。结论:所选工艺合理、稳定,可用于消脂保肝胶囊中药材的提取。

关键词 消脂保肝胶囊;总蒽醌;混合均匀试验

Optimization of the Extraction Technology of Xiaozhi Baogan Capsule by Mixing Homogeneous Design

ZHANG Zhen-wei, LI Yue-mei, XU Zhen-zhen (No. 155 Central Hospital of PLA, Henan Kaifeng 475003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Xiaozhi baogan capsule. METHODS: The extraction technology of Xiaozhi baogan capsule was optimized by $U_6(6 \times 3^2)$ mixing homogeneous design with the yield of extract and the content of total anthraquinone as index using amount of added water, decoction time and decoction times as factors. RESULTS: The optimal technology was as follows: adding 18-fold water, decocting for 3 times, lasting for 3 h each time. CONCLUSIONS: The optimum process is reasonable, stable and suitable for the extraction of Xiaozhi baogan capsule.

KEY WORDS Xiaozhi baogan capsule; Total anthraquinone; Mixing homogeneous design

近年来,随着人们生活水平的提高和生活方式的改变、高脂及高热量食品的大量摄入、运动锻炼的减少,脂肪肝发病率呈上升趋势。因此,寻求有效治疗脂肪肝的药物显得尤为重要。中医认为,脂肪肝多由饮食不节、过食肥甘导致脾胃受损、痰浊内停、瘀血阻络、肝失调达、阻滞肝络而成。消脂保肝

胶囊来源于我院多年使用的协定方,由虎杖、山楂、决明子等7味药材组成,用于治疗脂肪肝、高血脂伴有肝胆湿热及湿痰互结等证,治疗效果显著。在此处方中,虎杖、山楂为君药,决明子为臣药,总蒽醌类成分为其主要活性成分,因此笔者从活性组分角度出发,以大黄素为标示物,考察总蒽醌类化合物的

率的权重系数分别定为0.4、0.4、0.2,使优选出的工艺更加合理。

根据《中国药典》和文献^[5],笔者曾以275 nm为检测波长,甲醇-水(15:85, V/V)为流动相检测红景天苷。结果,受该波长检测响应值限制,制备的样品溶液浓度较高,检测酪萨维时会使样品中酪萨维和干扰成分不能达到有效分离,而且,在此检测条件下若色谱柱长期使用,柱效略微降低,会导致红景天苷与其他组分不能达到基线分离。又有文献报道^[6],红景天苷在223 nm波长处吸收明显高于在275 nm波长处,故笔者采用敏感度更高的223 nm波长进行检测,以减少供试品的取样量,降低样品浓度,使酪萨维达到理想的分离效果。经摸索,选用乙腈-水(7:93, V/V)作为流动相,红景天苷与其他杂质峰能完全分离,峰形对称,并且长期检测红景天苷时色谱柱均能保证分离度>1.5。综合考虑,最终确定以223 nm为检测波长、乙腈-水(7:93, V/V)为流动相检测红景天苷。

参考文献

- [1] 新疆维吾尔自治区食品药品监督管理局.新疆维吾尔自治区维吾尔药材标准:第1册[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,2010:201.
- [2] Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(7): 481.
- [3] Ma CY, Tao GJ, Tang T, et al. Preparative separation and purification of rosavin in *Rhodiola rosea* by macroporous adsorption resins[J]. *Sep Purif Technol*, 2009, 69(1):22.
- [4] 陈小明,徐超群.红景天中红景天苷的提取工艺研究[J]. *华西药学杂志*, 2010, 25(3):329.
- [5] 宋薇,石晓峰,张瑞堂,等.HPLC法测定复方红景天口含片中红景天苷和酪醇的含量[J]. *中国药房*, 2011, 22(7): 621.
- [6] 文萍,余良忠,李晶.HPLC测定景天祛斑胶囊中红景天苷的含量[J]. *中成药*, 2008, 30(2):299.

(收稿日期:2012-08-30 修回日期:2012-10-27)

[△] 基金项目:济南军区后勤科研计划项目(No.CJN10L067)

* 药师。研究方向:中药新药及质量标准。E-mail: zhenwei_981@163.com

通信作者:副主任药师。研究方向:药品管理和中药制剂研发。电话:0378-3958820。E-mail: lym155yy@163.com