

## • 科研交流 •

## 正交法优选中研 I 号冲剂提取工艺的探讨

刘振丽 张秋海 欧兴长

(中国中医研究院基础理论研究所 北京 100700)

中研 I 号为新研制的治疗艾滋病的中药复方冲剂。免疫学研究表明,该药具有抗猴 SIV 病毒的作用,并有良好的增强细胞和体液免疫功能。在坦桑尼亚艾滋病临床观察中,发现该药具有延长艾滋病患者寿命,改善其生命质量等方面的作用。中研 I 号方由金银花、黄芩、黄连等药组成。金银花为方中主药,取其清热解毒、凉散风热的作用。据报道<sup>[1]</sup>绿原酸是金银花的主要抗菌有效成分。因此在制定其制备工艺中,采用正交设计方法,用  $L_9(3^4)$  正交表,测定方中绿原酸含量及浸膏得率,以确定最佳提取工艺条件。

## 1 材料与仪器

Waters 公司高压液相色谱仪;730 数据处理机;480 紫外可见检测器;绿原酸对照品购于中国药品生物制品检定所;药材购自北京市药材公司;所用试剂为分析纯或色谱纯。

## 2 实验方法

**2.1 正交试验设计** 根据中药传统提取方法及处方中药材本身的特点,将提取时间及加水量作为考察因素,选用  $L_9(3^4)$  正交表进行试验。因素、水平安排见表 1。

**2.2 提取方法** 药材称重,按正交设计因素水平表加水进行煮提,合并提取液、过滤,滤

表 1 因素水平表

| 水平 | A(提取时间 hr) | B(加水量、为药材重量的倍数) |
|----|------------|-----------------|
| 1  | 1.5, 1.0   | 12, 10          |
| 2  | 1.0, 1.0   | 10, 8           |
| 3  | 1.0, 0.5   | 8, 6            |

液测量体积。每个因素、水平重复 3 次试验。

**2.3 浸膏得率测定** 分别定量取 100ml 滤液于已恒重的蒸发皿中,水浴蒸干。置烘箱中真空干燥 12hr,取出放置于干燥器中,30min 后称重,计算浸膏得率。浸膏得率正交表及方差分析见表 2、3。

表 2 浸膏得率  $L_9(3^4)$  正交表

|      | 列 号  |      |      |      | 试验次数                       |      |      | 共计    |
|------|------|------|------|------|----------------------------|------|------|-------|
|      | 1(A) | 2(B) | 3(C) | 4(D) | 1                          | 2    | 3    |       |
| 1    | 1    | 1    | 1    | 1    | 34.5                       | 32.9 | 33.4 | 100.8 |
| 2    | 1    | 2    | 2    | 2    | 38.7                       | 32.2 | 34.6 | 105.5 |
| 3    | 1    | 3    | 3    | 3    | 31.9                       | 31.0 | 31.2 | 94.1  |
| 4    | 2    | 1    | 2    | 3    | 36.6                       | 32.0 | 34.4 | 103.0 |
| 5    | 2    | 2    | 3    | 1    | 36.5                       | 32.1 | 34.0 | 102.6 |
| 6    | 2    | 3    | 1    | 2    | 33.2                       | 28.3 | 30.9 | 92.4  |
| 7    | 3    | 1    | 3    | 2    | 33.8                       | 35.1 | 34.3 | 103.2 |
| 8    | 3    | 2    | 1    | 3    | 32.8                       | 29.5 | 31.2 | 93.5  |
| 9    | 3    | 3    | 2    | 1    | 24.0                       | 28.1 | 26.5 | 78.6  |
| Z1   | 300  | 307  | 287  | 282  | 302                        | 281  | 291  |       |
| Z2   | 298  | 302  | 287  | 301  |                            |      |      |       |
| Z3   | 275  | 265  | 300  | 291  | 各次合计 $S=10.42$             |      |      |       |
| 因素 S | 13.8 | 22.8 | 7.5  | 9.6  | 全部数据 $S=3.17$ 9 组 $S=8.46$ |      |      |       |

表 3 方差分析表

| 变异来源 | 自由度 | 均方    | F 值   | P     |
|------|-----|-------|-------|-------|
| 组间   | 8   | 23.87 | 8.22  | <0.01 |
| (A)  | 2   | 21.32 | 7.34  | <0.01 |
| (B)  | 2   | 57.73 | 19.88 | <0.01 |
| (C)  | 2   | 6.26  | 2.16  | >0.05 |
| (D)  | 2   | 10.17 | 3.50  | >0.05 |
| 次间   | 2   | 12.06 | 4.15  | >0.05 |
| 误差   | 16  | 2.90  |       |       |

2.4 绿原酸含量测定 采用十八烷基键合硅胶 ODS 柱,3.9×150cm;流动相:甲醇-0.2M 醋酸醋酸钠缓冲溶液(6.5:93.5);柱温:室温(20℃);流速:1ml/min;检测波长:326nm;0.1AUFS。标准曲线:Y=12848x-114 r=0.9994

取出各滤液一定量,适当稀释后,离心,用 0.5μ millipore 膜过滤,进样,得峰面积,计

表 4 绿原酸含量 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表

| 列 号  |      |      |      |      | 试验次数                     |      |      | 共计   |
|------|------|------|------|------|--------------------------|------|------|------|
|      | 1(A) | 2(B) | 3(C) | 4(D) | 1                        | 2    | 3    |      |
| 1    | 1    | 1    | 1    | 1    | 0.35                     | 0.31 | 0.33 | 0.98 |
| 2    | 1    | 2    | 2    | 2    | 0.37                     | 0.31 | 0.34 | 1.02 |
| 3    | 1    | 3    | 3    | 3    | 0.30                     | 0.30 | 0.31 | 0.91 |
| 4    | 2    | 1    | 2    | 3    | 0.32                     | 0.32 | 0.31 | 0.96 |
| 5    | 2    | 2    | 3    | 1    | 0.34                     | 0.39 | 0.33 | 1.05 |
| 6    | 2    | 3    | 1    | 2    | 0.32                     | 0.32 | 0.31 | 0.96 |
| 7    | 3    | 1    | 3    | 2    | 0.33                     | 0.32 | 0.31 | 0.97 |
| 8    | 3    | 2    | 1    | 3    | 0.35                     | 0.32 | 0.33 | 1.00 |
| 9    | 3    | 3    | 2    | 1    | 0.30                     | 0.30 | 0.30 | 0.91 |
| Z1   | 2.91 | 2.90 | 2.94 | 2.94 | 2.97                     | 2.91 | 2.87 |      |
| Z2   | 2.97 | 3.07 | 2.88 | 2.94 |                          |      |      |      |
| Z3   | 2.88 | 2.78 | 2.93 | 2.88 | 各次合计 S=0.061             |      |      |      |
| 因素 S | 0.05 | 0.15 | 0.03 | 0.04 | 全部数据 S=0.021 9 组 S=0.047 |      |      |      |

表 5 方差分析表

| 变异来源 | 自由度 | 均方       | F 值  | P     |
|------|-----|----------|------|-------|
| 组间   | 8   | 7.28E-04 | 2.69 | <0.05 |
| (A)  | 2   | 2.38E-04 | 0.88 | >0.05 |
| (B)  | 2   | 2.39E-03 | 8.84 | <0.01 |
| (C)  | 2   | 1.27E-04 | 0.47 | >0.05 |
| (D)  | 2   | 1.53E-04 | 0.56 | >0.05 |
| 次间   | 2   | 4.11E-04 | 1.52 | >0.05 |
| 误差   | 16  | 2.71E-04 |      |       |

算绿原酸含量。计算结果的正交表及方差分析见表 4、5。

3 结果及讨论

由表 2、3 可知,当以浸膏得率为指标时,A 因素 P<0.01,说明煎煮时间影响显著,A1>A2>A3,说明提取时间 1.5 为佳;B 因素 P<0.01,且 B1>B2>B3 说明加水量以 12、10 倍为佳。由表 4、5 可知,当以绿原酸含量为指标时,A 因素之 P>0.05,说明提取时间影响不大;B 因素 P<0.01,B2>B1>B3,说明加水量以 10 倍、8 倍为佳。考虑在中药提取中,有效成分的含量较浸膏得率更能决定药物的作用,认为中研 I 号的最佳提取工艺为煎煮 2 次,第 1 次加水 10 倍,沸后煎煮 1.5h,第 2 次加水 8 倍,沸后煎煮 1.0h。

感谢本所卢长安教授编辑的正交设计计算机软件程序。

参考文献

1 林启寿,中草药成分化学.北京:科学出版社,1977.145

(收稿:1996-12-09)