

Study on the Extraction Technology of Psoralen from Compound Radix *Ficus hirta* Vahl Preparations

Shuxing Cai*, Jianglin Zou

Modern Chinese Medicine Institute, Hutchison Whampoa Guangzhou Baiyunshan Chinese Medicine Co. Ltd.,
Guangzhou Guangdong
Email: *2456227325@qq.com

Received: Oct. 25th, 2019; accepted: Nov. 11th, 2019; published: Nov. 18th, 2019

Abstract

The optimal conditions of extraction of psoralen were explored from Compound Radix *Ficus hirta* Vahl preparations by response surface methodology. Based on one-factor-at-a-time experiments, solid to liquid ratio, temperature, and pressure were determined as independent variables. Response surface methodology (RSM) based on a three-level, three-variable Box-Behnken design was applied to study the main effect factors of the extraction process of psoralen from Compound Radix *Ficus hirta* Vahl preparations, and establish the corresponding mathematical model, then response surface analysis (RSA) was conducted with the psoralen in the preparation as responsiveness. The optimal extraction conditions were obtained as follows: the temperature 43°C, the liquid to solid ratio 51:1 mL:g, pressure 36 Mpa.

Keywords

Ficus hirta Vahl, Psoralen, Extraction Technology

响应面法优化五指毛桃复方制剂中补骨脂素提取工艺

蔡树杏*, 邹江林

广州白云山和记黄埔中药有限公司现代中药研究院, 广东 广州
Email: *2456227325@qq.com

收稿日期: 2019年10月25日; 录用日期: 2019年11月11日; 发布日期: 2019年11月18日

*通讯作者。

摘要

利用响应面法优化五指毛桃复方制剂中五指毛桃的提取工艺条件。在单因素试验研究的基础上, 应用 Design Expert 8.0.6 建立数学模型, 以五指毛桃含量为响应值, 进行三因素三水平的响应面分析。结果表明, 利用连续式提取分离浓缩器提取五指毛桃复方制剂中补骨脂素的最佳工艺为温度 43℃、料液比为 51:1 mL:g、压力 36 Mpa。

关键词

五指毛桃, 补骨脂素, 提取工艺

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

五指毛桃复方制剂由五指毛桃、玉竹、桑叶和罗汉果组成。其中, 五指毛桃为桑科植物粗叶榕 *Ficus hirta* Vahl 的干燥根, 味甘, 性微温, 具有益气健脾, 祛痰化湿, 舒筋活络的作用, 用于肺虚痰喘, 脾胃气虚[1]。其主要成分有糖类、氨基酸[2]、黄酮类[3]、香豆素[3]、甾类[4]等。现代药理研究证明, 五指毛桃具有镇咳平喘[5]、对平滑肌有双向调节作用[6]、还具有抗菌[7]、护肝[8]、抗氧化[9]、免疫调节[10]等作用。补骨脂素具有较强的药理作用, 是五指毛桃的主要活性成分之一, 可作为评价五指毛桃质量的指标性成分[11]。

2. 材料与仪器

连续式提取分离浓缩器: 广州泽力医药科技有限公司, ZLUPD; 高效液相仪: 戴安 U3000 高效液相色谱仪, 色谱柱 C18 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 电子分析天平(梅特勒-托利多); 密理博 milli-Q Direct 8 纯水仪(美国 Millipore 公司); 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 粉碎机(泓荃制药机械公司)。

补骨脂素对照品: 于中国食品药品检定研究院, 批号为 110739-201416。

3. 方法与结果

3.1. 五指毛桃复方制剂中补骨脂素提取工艺

五指毛桃、玉竹、桑叶和罗汉果分别净选、除杂, 按照配比混合, 粉碎。过孔径 0.12 mm 筛网, 粉碎过程中物料温度不超过 35℃ ± 5℃; 加入体积为原料总重量一定倍数水, 混合调浆(即将固水混合物搅拌均匀的混悬液); 将混悬液转移至连续式提取分离浓缩器中在一定温度、压力下进行连续提取, 提取过程中同时在连续式提取分离浓缩器配套的高压均质机中匀浆化; 提取结束后, 固液混合物离心沉降; 提取液经过滤芯孔径为 500 nm 的陶瓷膜进行微滤; 滤液通过反渗透膜进行反渗透浓缩至波美度 10, 得到浓缩液; 将浓缩液转移至喷雾干燥机中进行喷雾干燥, 即得。

3.2. 色谱条件

C18 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) 色谱柱; 流动相为水(A)-甲醇(B), 按表 1 所示洗脱程序进行梯度洗脱, 流速 0.4 ml/min, 柱温 35℃, 进样量 10 μL, 检测波长 245 nm。

Table 1. Gradient eluted program

表 1. 洗脱梯度程序

时间	A% (v/v)	B% (v/v)
初始	85	15
10	85	15
25	40	60
35	40	60
37	85	15
42	85	15

3.3. 对照品溶液的制备

对照品溶液的制备: 取补骨脂素对照品适量, 精密称定, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声(功率 100 W, 频率 40 kHz)使其溶解(水温升高约 1°C), 冷却至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 配制成补骨脂素浓度为 0.188 mg/mL 的溶液。色谱图见图 1。

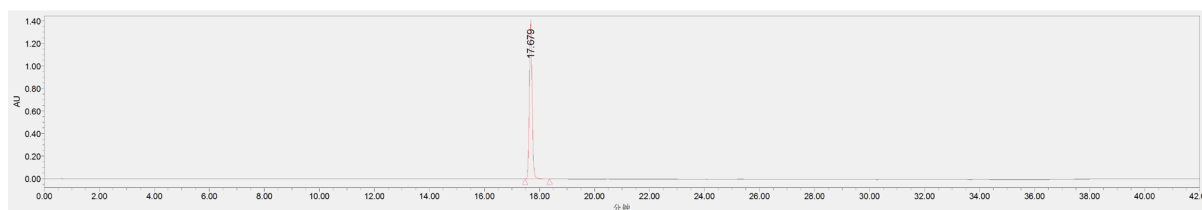


Figure 1. Chromatogram of psoralen reference substance

图 1. 补骨脂素对照品色谱图

3.4. 供试品溶液的制备

供试品溶液的制备: 取供试品 0.5 g, 精密称定, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 50%甲醇溶液 30 mL, 超声(功率 100 W, 频率 40 kHz)提取 30 min, 滤过, 滤液回收溶剂至干, 残渣加入甲醇溶解, 并转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。色谱图见图 2。

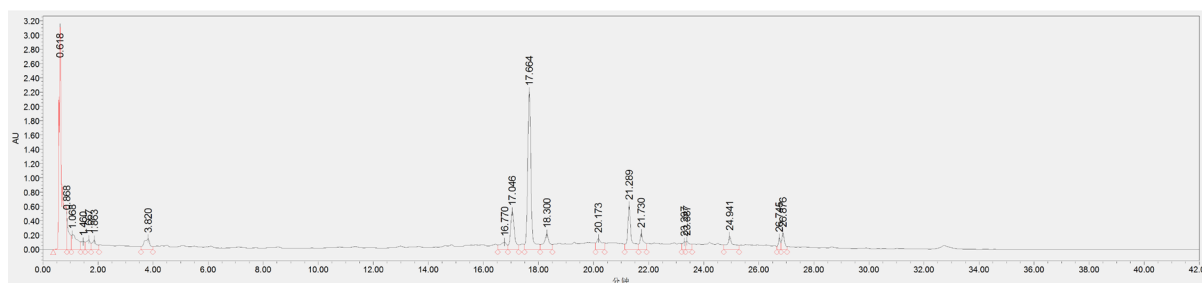


Figure 2. Chromatogram of sample

图 2. 供试品色谱图

3.5. 响应面试验与结果分析

经单因素考察试验后, 选定提取用水量(料液比)、提取温度和提取压力作为考察因素, 以补骨脂素的

含量为响应值, 根据 Box-Behnken 模型的实验设计原理, 安排实验组合, 响应面分子因子及水平见表 2; 基于 Design-Expert8.0.6 软件进行数据分析, 确定最优提取工艺。

Table 2. Factors and levels table of response surface experiment

表 2. 响应面分析因子及水平表

因子	编码	水平		
		-1	0	1
提取温度(°C)	A	20	40	60
料液比(mL:g)	B	20	40	60
压力(MPa)	C	10	30	50

响应面实验方案及结果见表 3。

Table 3. Experimental design and results for response surface analysis

表 3. 响应面试验方案与结果

序号	提取温度(°C)	料液比(mL:g)	压力(MPa)	补骨脂素含量(mg/g)
1	-1	-1	0	3.69
2	1	0	1	4.52
3	-1	0	-1	3.39
4	0	0	0	4.95
5	0	0	0	4.91
6	1	0	-1	3.86
7	0	0	0	5.16
8	0	0	0	5.14
9	1	1	0	4.98
10	0	1	-1	3.95
11	-1	1	0	4.16
12	1	-1	0	4.32
13	-1	0	1	4.52
14	0	0	0	5.09
15	0	-1	-1	3.09
16	0	-1	1	4.25
17	0	1	1	4.87

经软件 Design Expert8.0.6 分析, 补骨脂素含量与提取温度(A)、料液比、(B)、提取压力(C)的二元多项式回归模型为:

$$Y = 5.05 + 0.24A + 0.33B + 0.48C + 0.047AB - 0.12AC - 0.060BC - 0.37A^2 - 0.40B^2 - 0.61C^2。 R^2 = 0.9700, R^2_{adj} = 0.9314。$$

回归模型的方差分析结果见表 4。

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) of regression equation
表 4. 回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	PProb > F	显著性
Model	6.3735	9	0.7082	25.1281	0.0002	**
A-温度	0.4608	1	0.4608	16.3508	0.0049	**
B-料液比	0.8515	1	0.8515	30.2146	0.0009	**
C-压力	1.8721	1	1.8721	66.4290	< 0.0001	**
AB	0.0090	1	0.0090	0.3202	0.5891	
AC	0.0552	1	0.0552	1.9596	0.2043	
BC	0.0144	1	0.0144	0.5110	0.4979	
A ²	0.5609	1	0.5609	19.9044	0.0029	**
B ²	0.6653	1	0.6653	23.6068	0.0018	**
C ²	1.5796	1	1.5796	56.0499	0.0001	**
残差	0.1973	7	0.0282			
失拟项	0.1459	3	0.0486	3.7840	0.1156	
纯误差	0.0514	4	0.0129			
总和	6.5708	16				

注: *代表差异显著($p < 0.05$), **代表差异极显著($p < 0.01$)。

从方差分析结果可知, 模型 $p = 0.0002 < 0.01$, 说明以补骨脂素建立的回归模型极显著。相关系数 $R^2 = 0.9700$, 修正系数 $R^2_{adj} = 0.9314$, 表明模型的实测值与预测吻合, 失拟项 $p > 0.05$, 失拟项不显著, 表明二元多项式对试验中的拟合较好。A、B、C、A²、B²、C² 对试验结果影响极显著($p < 0.01$)。

利用此模型, 可拟合出三个响应值相应的响应面分析图。图 3 表明料液比与温度交互作用对补骨脂素含量的影响, 随着料液比的增加和提取温度的提高, 补骨脂素的含量先显著增加后轻微下降。补骨脂素的含量受料液比的影响大于受提取温度影响。图 4 表明压力与温度交互作用对补骨脂素含量的影响, 随着压力的增加和提取温度的提高, 补骨脂素的含量先显著增加后轻微下降。补骨脂素的含量受压力的影响大于受提取温度影响。图 5 表明压力与料液比交互作用对补骨脂素含量的影响, 随着压力和料液比的增加, 补骨脂素的含量先显著增加后轻微下降。补骨脂素的含量受料液比的影响和受提取温度影响都比较明显。

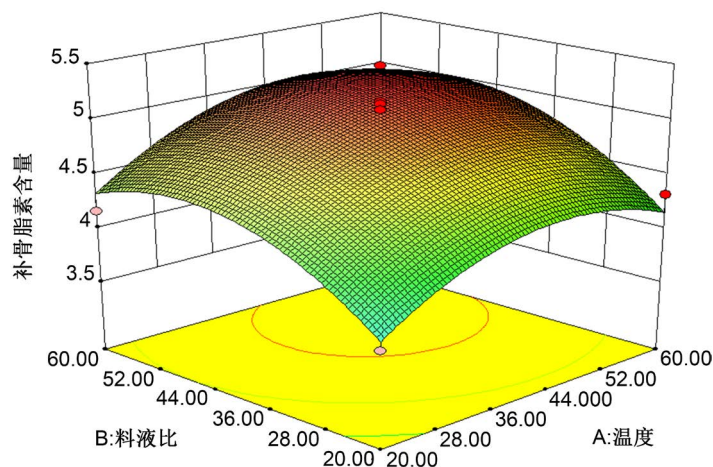


Figure 3. Interaction between liquid to solid ratio and temperature
图 3. 料液比与温度的交互作用

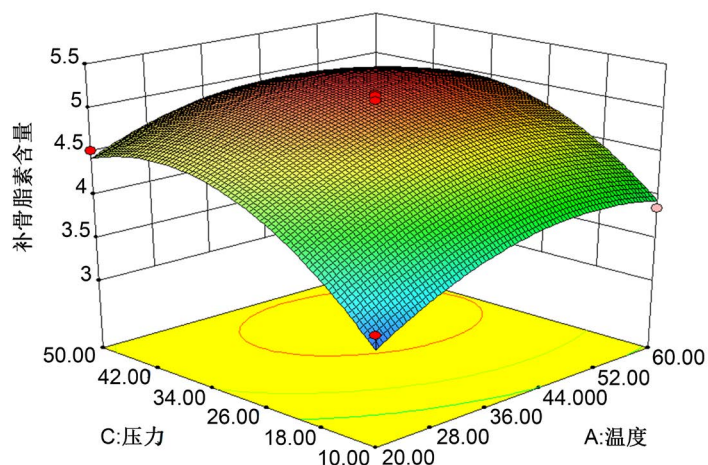


Figure 4. Interaction between pressure and temperature
图 4. 压力与温度的交互作用

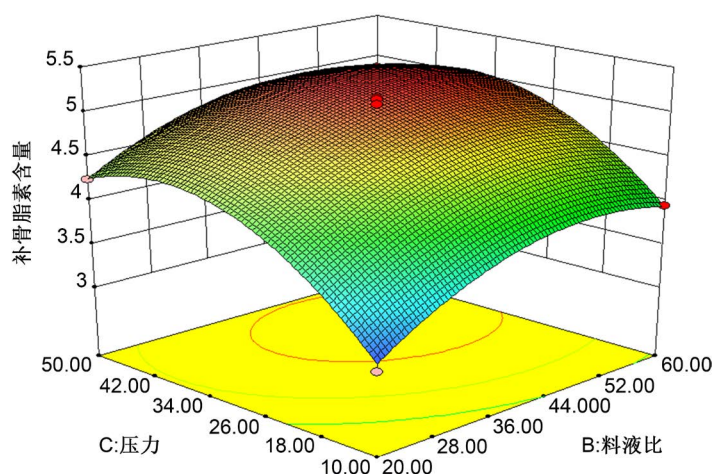


Figure 5. Interaction between pressure and liquid to solid ratio
图 5. 压力与料液比的交互作用

通过上述 Box-Behnken 实验结果, 以补骨脂素为响应值, 确定模型优化得到本发明最佳提取工艺为温度 43.30°C、料液比为 51.45:1 (mL:g)、压力 36.26 Mpa, 在此工艺条件下预测浓缩液中五指毛桃最高含量为 5.22 mg/g。但考虑实际操作可行性, 故选定调整后工艺参数为温度 43°C、料液比为 51:1 mL:g、压力 36 Mpa。为了验证模型的可靠性, 在此工艺条件下重复三次试验, 得到产品中补骨脂素的含量为 5.25 mg/g (RSD = 1.97%, $n = 3$), 说明优化试验得到的最佳参数较为可靠, 此时, 补骨脂素的转移率为 87.4% (RSD = 2.01%, $n = 3$)。

基金项目

国家中管局“南药资源综合开发国际合作重点研究室”、广州市专业镇产业协同创新中心建设省市联动项目“同和街生物医药专业镇协同创新中心”, 项目编号: 20180801000。

参考文献

- [1] 江苏省植物研究所. 新华本草纲要(II) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991.
- [2] 郑蓉蓉, 轧霁, 王文婧, 杨寒冰, 张庆文, 张晓琦, 叶文才. 五指毛桃的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013,

38(21): 3696-3701.

- [3] 轧霁, 张晓琦, 王英, 李药兰, 叶文才. 五指毛桃黄酮和香豆素类成分研究[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(6): 49-52.
- [4] 赵丽萍, 狄斌, 冯锋. 五指毛桃的化学成分[J]. 药学与临床研究, 2008(1): 5-7.
- [5] 周添浓, 唐立海, 黄诗冲, 刘丹丹, 王艳, 刘亮锋, 赖平, 叶木荣. 五指毛桃镇咳及平喘作用研究[J]. 中药材, 2009, 32(4): 571-574.
- [6] 利红宇, 王成蹊, 黄雪薇, 林志云. 五指毛桃根对平滑肌的作用研究[J]. 医药论坛杂志, 2007(23): 9-10.
- [7] 陈琼, 叶思霞. 微量显色法测定五指毛桃抑菌活性[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(15): 8452-8454.
- [8] 吕颖坚, 贾凤兰, 阮明, 等. 五指毛桃水提物对二甲基甲酰胺所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中药材, 2008, 31(9): 1364-1368.
- [9] 叶童, 石瑞娟, 吴易武, 吴燕红, 李苑新, 余邦伟. 五指毛桃的化学成分和药理活性研究进展[J]. 广东药科大学学报, 2019(4): 591-596.
- [10] 刘春玲, 徐鸿华, 吴清和, 等. 五指毛桃对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 中药材, 2004, 27(5): 367-368.
- [11] 钟小清. 五指毛桃药材质量的研究[D]: [博士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2001.