

· 论著 ·

## 女贞子提取工艺的研究

金 婷, 戈 煜, 瞿发林 (联勤保障部队 904 医院, 江苏 常州 213003)

**[摘要]** 目的 优化女贞子的最佳提取条件。方法 采用正交试验法设计实验, 考察乙醇浓度、加醇量、提取时间和提取次数, 通过齐墩果酸、特女贞苷含量测定及浸膏得率来确定最佳乙醇提取工艺; 考察粉碎度对女贞子提取工艺的影响, 比较女贞子提取液趁热过滤浓缩与静置 24 h 后过滤浓缩的结果差异, 并比较女贞子醇提工艺和水提工艺的各项指标。结果 女贞子最佳提取工艺为加 10 倍量的 70% 乙醇, 提取 3 次, 每次 1 h, 提取液趁热过滤浓缩。结论 该优化提取工艺合理可行, 更适合生产。

**[关键词]** 女贞子; 正交试验; 齐墩果酸; 特女贞苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)03-0249-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.03.012

## Study on extraction process of *Ligustrum lucidum* Ait

JIN Ting, GE Yu, QU Falin (No. 904 Hospital of Joint Logistics Units, Changzhou 213003, China)

**[Abstract]** **Objective** To optimized the ethanol extraction process of *Ligustrum lucidum* Ait. **Methods**  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment was adopted with the change of the contents of oleanolic acid, specnuezhenide and extraction yield. The best ethanol extraction process was optimized by concentration of ethanol, the amount of ethanol, extraction time and extraction times. The effects of the extraction process of *Ligustrum lucidum* Ait such as crushing degrees and different solvents were inspected in this experiment. The extraction process was selected from the extraction which was filtered hot and concentrated or filtered and concentrated after standing for 24 h. **Results** The best extraction process of *Ligustrum lucidum* Ait was extracted in 10 times 70% ethanol solution for 3 times and heated for 1 hour per time, and then the extraction was filtered hot and concentrated. **Conclusion** The extraction process of *Ligustrum lucidum* Ait was reasonable which was more suitable for production.

**[Key words]** *Ligustrum lucidum* Ait; orthogonal test; oleanolic acid; specnuezhenide

女贞子是植物女贞 (*Ligustrum lucidum* Ait) 的干燥成熟果实, 在《神农本草经》中就有记载, 女贞子味甘、苦, 性凉, 有滋补肝肾、明目乌发之功效, 常用于肝肾阴虚, 耳鸣眩晕, 腰膝酸软, 须发早白, 内热消渴, 骨蒸潮热等<sup>[1]</sup>。女贞子含有多种化合物, 如环烯醚萜类化合物、三萜类化合物、黄酮类化合物等<sup>[2]</sup>。其中, 环烯醚萜类特女贞苷是女贞子的特征成分之一, 具有显著的抗氧化活性, 可增强免疫力<sup>[3]</sup>。特女贞苷易溶于水, 可溶于甲醇和乙醇。三萜类化合物齐墩果酸有抑瘤、保肝、强心和降脂等作用<sup>[4]</sup>, 其不溶于水, 可溶于乙醇<sup>[5-6]</sup>。

因临床常用酒女贞子入药, 故本实验选用酒女贞子作为实验材料。为更好地提取女贞子的有效成分, 本实验将齐墩果酸和特女贞苷同时作为指标成分, 根据特女贞苷和齐墩果酸的理化性质, 以乙醇为

提取溶剂, 采用正交试验研究了女贞子的提取工艺, 并考察不同粉碎度、提取液是否静置以及不同溶剂对女贞子提取工艺的影响。

### 1 材料与仪器

#### 1.1 材料

酒女贞子 (天马中药饮片科技有限公司, 批号: 140902); 特女贞苷对照品 (中国食品药品检定研究院, 含量: 97.3%, 批号: 111926-201404)、齐墩果酸对照品 (中国食品药品检定研究院, 含量: 94.9%, 批号: 110709-201206); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸馏水。

#### 1.2 仪器

高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); HH-2 数显恒温水浴锅 (常州朗越仪器制造有限公司); 电热恒温水浴锅 (上海医疗器械五厂); 旋转蒸发器 (上海青浦沪西仪器厂); XS105 梅特勒-托利多电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); FA1004 上皿电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); KH2200DB 型数控超声波清洗器 (昆山禾创超

**[作者简介]** 金 婷, 本科, 中药师, Tel: (0519) 83064835, Email: jintingnj@163.com

**[通讯作者]** 瞿发林, 硕士, 主任药师, 研究方向: 制剂研发, Tel: (0519) 83064780, Email: qufalin@163.com

声仪器有限公司); DHG-9240 电热恒温鼓风干燥箱 (上海一恒科技有限公司); Waters 系列高效液相色谱仪 (美国, CapLC2487 双波吸光度检测器, Empower2 数据处理系统)。

## 2 方法和结果

### 2.1 醇提工艺正交试验设计

以乙醇浓度(A)、加醇量(药材质量倍数)(B)、提取时间(C)、提取次数(D)为考察因素, 每个因素设3个水平<sup>[7-8]</sup>, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计安排实验, 以特女贞苷和齐墩果酸的含量以及浸膏得率作为考察指标。因素水平表见表1。

表1 女贞子醇提工艺因素水平表

因素水平	A因素 (乙醇浓度, %)	B因素 (加醇量, 药材质量倍数)	C因素 (提取时间, t/h)	D因素 (提取次数)
1	60	8	1	1
2	70	10	1.5	2
3	80	12	2	3

#### 2.1.1 样品溶液的制备

称取酒女贞子压碎品10g, 共9份, 浸泡1h, 然后根据  $L_9(3^4)$  试验条件分别提取, 趁热过滤浓缩, 浓缩液定容至100ml备用。

#### 2.1.2 浸膏得率的测定<sup>[9]</sup>

精密量取25ml已定容至100ml的提取液, 置于105℃干燥至恒重的蒸发皿, 水浴蒸干, 在干燥箱中干燥3h, 在干燥器内冷却至室温, 恒重后, 精密称重并计算浸膏得率。

#### 2.1.3 特女贞苷的含量测定<sup>[10-11]</sup>

(1)特女贞苷溶液的制备。①对照品溶液: 取适量特女贞苷对照品, 精密称定, 加甲醇溶解, 制成每

1ml含特女贞苷0.1mg的对照溶液。②供试品溶液: 精密量取10ml提取液, 在减压的条件下蒸干, 用甲醇溶解残渣并稀释至10ml, 充分摇匀, 并用脂溶性微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 取续滤液, 即得。

(2)特女贞苷色谱条件。使用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1%磷酸(18:82)为流动相; 流速1.0 ml/min; 检测波长224 nm; 柱温30℃; 进样量20 μl。

#### 2.1.4 齐墩果酸的含量测定

(1)齐墩果酸溶液的制备。①对照品溶液: 精密称取适量齐墩果酸对照品, 加甲醇溶解, 制成每1ml含齐墩果酸0.1mg的对照品溶液; ②供试品溶液: 精密量取10ml提取液, 在减压条件下蒸干, 用甲醇溶解残渣并稀释至10ml, 充分摇匀, 并用脂溶性微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 得续滤液, 取续滤液1ml用甲醇稀释并定容至10ml, 即得。

(2)齐墩果酸色谱条件<sup>[12-13]</sup>。使用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 以甲醇-0.4%磷酸(90:10)为流动相; 流速0.8 ml/min; 检测波长210 nm; 柱温25℃; 进样量20 μl。

#### 2.1.5 考察指标的测定

(1)浸膏得率。精密吸取25ml样品溶液, 置于105℃干燥至恒重的蒸发皿, 按照“2.1.2”项下方法操作, 计算浸膏得率 = (25 ml 浸膏量 × 4 / 女贞子药材量) × 100%。

(2)特女贞苷及齐墩果酸的含量。根据“2.1.3”及“2.1.4”项下供试品溶液的制备方法分别制备供试品溶液, 按照“2.1.3”及“2.1.4”项下色谱条件进行含量测定。结果如表2所示, 方差分析见表3(提取液趁热过滤并浓缩)。

表2  $L_9(3^4)$  正交试验结果

序号	A	B	C	D	特女贞苷含量(mg/g)	齐墩果酸含量(mg/g)	浸膏得率(%)	综合评分
1	1	1	1	1	1.45	7.49	20.23	58.72
2	1	2	2	2	1.97	9.91	26.01	78.03
3	1	3	3	3	1.66	10.86	29.69	78.13
4	2	1	2	3	2.05	14.05	26.50	91.46
5	2	2	3	1	1.82	10.57	21.46	74.38
6	2	3	1	2	1.89	12.46	25.94	83.93
7	3	1	3	2	1.85	13.60	24.58	85.60
8	3	2	1	3	2.44	11.75	26.96	91.61
9	3	3	2	1	1.34	11.30	20.27	67.79
K1	71.63	78.59	78.09	66.96				
K2	83.26	81.34	79.09	82.52				
K3	81.67	76.62	79.37	87.07				
R	11.63	4.72	1.28	20.11				

表2中,综合评分<sup>[9,14]</sup>=(特女贞苷含量/最大特女贞苷含量)×40+(齐墩果酸含量/最大齐墩果酸含量)×40+(浸膏得率/最大浸膏得率)×20。

表3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
A	238.58	2	119.29	87.07	$P < 0.05$
B	33.76	2	16.88	12.32	
C	2.74	2	1.37		
D	666.83	2	333.42	243.37	$P < 0.01$

注: $F_{0.05(2,2)}=19, F_{0.01(2,2)}=99$

### 2.1.6 结果分析

从直观分析来看,影响女贞子趁热过滤浓缩乙醇提取效果的主要因素顺序为:D(提取次数)>A(乙醇浓度)>B(加醇量)>C(提取时间),优化水平是 $A_2B_2C_3D_3$ ,方差分析结果表明,A因素、D因素对实验结果具有显著意义,C因素对实验结果基本无影响。综合分析结果:趁热过滤浓缩的女贞子提取液最佳提取工艺为 $A_2B_2C_1D_3$ ,即:加入10倍量的70%乙醇,女贞子提取3次,每次1h。

### 2.1.7 正交验证试验

称取酒女贞子压碎品10g,共3份,根据最佳提取工艺条件提取,结果3批试验的特女贞苷、齐墩果酸的平均含量分别为1.87、12.64 mg/g, RSD分别为1.94%、1.93%,原药材女贞子中特女贞苷、齐墩果酸的含量分别为2.51、15.62 mg/g,特女贞苷、齐墩果酸的提取率分别达到74.5%、80.9%;浸膏得率为26.23%,RSD为1.21%。结果表明所选的最优提取工艺条件合理、稳定、可行。

## 2.2 粉碎度对提取工艺的影响

因女贞子果皮脆硬,笔者考察不同粉碎程度对女贞子提取工艺的影响。

### 2.2.1 不同粉碎度样品的制备

原品:取酒女贞子直接进行样品处理。压碎品:取酒女贞子用铁锤敲碎,以破坏果皮。粉碎品:取酒女贞子经高速万能粉碎机粉碎。

### 2.2.2 样品溶液的制备

称取酒女贞子原品、压碎品、粉碎品各10g,按照优选的女贞子最佳提取工艺加入10倍量的70%乙醇,浸泡1h,回流提取1h,提取3次,女贞子提取液趁热过滤浓缩并定容至100ml,放置备用。实验结果见表4。

表4 粉碎度对女贞子提取工艺的影响

样品	特女贞苷含量(mg/g)	齐墩果酸含量(mg/g)	浸膏得率(%)	综合评分
原品	1.19	10.46	24.79	72.01
压碎品	1.85	12.68	26.22	91.51
粉碎品	2.31	11.37	26.93	95.87

注:综合评分方法见表2

### 2.2.3 结果分析

虽然粉碎品的综合评分最高,但由于粉碎程度无法确定,而粉碎程度对实验结果有影响,故不以粉碎品作为实验原料;压碎品的特女贞苷、齐墩果酸的含量及浸膏得率远高于原品,综合评分亦高于原品,综上,以女贞子压碎品作为本实验的实验材料进行正交试验。

## 2.3 静置时间对提取工艺的影响

### 2.3.1 不同静置时间

根据已选取的女贞子最佳提取工艺称取酒女贞子压碎品10g,共5份,将女贞子提取液分别静置0、12、24、36、48h后过滤浓缩,考察此因素对女贞子提取液中特女贞苷、齐墩果酸含量及浸膏得率的影响,结果见表5。

表5 不同静置时间试验结果

静置时间(t/h)	特女贞苷含量(mg/g)	齐墩果酸含量(mg/g)	浸膏得率(%)
0	1.85	12.68	26.22
12	1.91	12.16	25.33
24	2.05	11.48	24.52
36	2.03	11.45	24.57
48	2.04	11.37	24.49

由表5可知,静置时间小于24h时,特女贞苷含量略有增长,齐墩果酸含量及浸膏得率降低;静置时间超过24h后,各项考察指标均无显著性差异,故考察静置24h后浓缩对女贞子提取工艺的影响。

### 2.3.2 结果验证试验

称取酒女贞子压碎品10g,共10份,并根据最佳提取工艺条件提取。其中5份样品提取液趁热过滤浓缩,并定容至100ml备用;另5份样品提取液静置24h后过滤浓缩,再定容至100ml备用。按照“2.1.3”、“2.1.4”、“2.1.5”项下的各考察指标测定方法测定特女贞苷、齐墩果酸的含量及浸膏得率。实验结果见表6。

表6 趁热过滤浓缩与静置24 h后浓缩结果比较( $n=5$ )

序号	特女贞苷含量(mg/g)		齐墩果酸含量(mg/g)		浸膏得率(%)	
	未静置	静置24 h	未静置	静置24 h	未静置	静置24 h
1	1.87	2.04	12.92	11.51	26.24	24.50
2	1.89	2.06	12.28	11.28	26.19	24.32
3	1.92	2.05	12.78	11.42	26.69	25.16
4	1.85	2.02	12.68	11.40	26.22	24.44
5	1.82	2.12	12.56	11.82	25.80	24.50
均值	1.87±0.05	2.04±0.07**	12.68±0.29	11.40±0.42**	26.22±0.43	24.60±0.56***

\*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ ,与未静置组比较

### 2.3.3 结果分析

采用SPSS统计软件对数据进行分析,采用 $t$ 检验分析各组间的配对平均值。结果如表6所示,静置24 h后过滤浓缩女贞子提取液的特女贞苷含量明显升高( $P<0.01$ ),而齐墩果酸的含量和浸膏得率却明显下降( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )。将女贞子提取液静置24 h后,过滤并浓缩,虽然特女贞苷的含量有所升高,但齐墩果酸的含量和浸膏得率均显著降低,综合评分较低,综合各因素,女贞子提取液趁热过滤浓缩更利于女贞子提取工艺的优化。

### 2.4 女贞子醇提工艺与水提工艺<sup>[10]</sup>的比较

女贞子的提取方法包括乙醇回流提取法、水煎煮法、微波辅助提取法、超临界流体提取法、半仿生提取法、大孔树脂吸附法等。根据实际工业生产情况,本实验比较乙醇提取工艺与水提工艺对女贞子提取结果的影响。

#### 2.4.1 样品溶液的制备

称取酒女贞子压碎品10 g共10份,其中5份按正交试验所得最佳优化工艺提取,另5份浸泡1 h后加10倍药材量水提取3次,每次1 h。以特女贞苷和齐墩果酸含量及浸膏得率为考察指标,比较女贞子醇提物和水提物中特女贞苷、齐墩果酸的含量及浸膏得率。结果见表7。

表7 女贞子不同溶媒提取工艺的比较( $\bar{x}\pm s$ )

样品	特女贞苷含量(mg/g)	齐墩果酸含量(mg/g)	浸膏得率(%)
女贞子醇提物	1.87±0.05	12.68±0.29	26.22±0.43
女贞子水提物	2.37±0.08**	2.76±0.06***	23.42±0.37***

\*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ ,与女贞子醇提物比较

#### 2.4.2 结果分析

采用SPSS统计软件对数据进行分析,采用 $t$ 检验分析各组间的均数。结果表明,女贞子水提取液中特女贞苷的含量显著高于女贞子乙醇提取液( $P<0.01$ ),而齐墩果酸的含量、浸膏得率却明显低

于女贞子乙醇提取液( $P<0.001$ )。

## 3 讨论

### 3.1 女贞子提取率

女贞子内果皮质地坚硬,有效成分不易溶出,比较女贞子原品和压碎品提取液中特女贞苷和齐墩果酸的含量,原品中特女贞苷和齐墩果酸的提取率仅47.4%和67.0%。压碎品果皮破裂,有效成分基本溶出,特女贞苷和齐墩果酸的提取率分别为74.5%和80.9%,符合药材有效成分提取要求。

### 3.2 粉碎程度

在女贞子提取工艺的研究中,笔者初步研究了不同粉碎程度的女贞子中特女贞苷、齐墩果酸的含量。将女贞子用高速粉碎机粉碎,对粉碎后的女贞子分级:不过一号筛品、过一号筛不过二号筛品,并取原品作为对照,各称取10 g,加入10倍量的70%乙醇,浸泡1 h,然后回流提取1 h,提取1次,趁热过滤并浓缩,浓缩液定容至100 ml得样品溶液。测定各样品中特女贞苷、齐墩果酸的含量及浸膏得率,结果显示,不过一号筛品各项指标均为最高。分析结果发现,不过一号筛品基本都是果皮破裂的女贞子。但在粉碎过程中发现女贞子取样不均,因此,为了实验材料取样均匀并适于生产,最终选择考察原品、压碎品和粉碎品对女贞子提取工艺的影响。

### 3.3 静置时间

一般情况下,中药材提取液都经静置过滤以除去泥沙、鞣质等。本实验欲优化女贞子提取工艺,故亦需考虑提取液是否需要静置。根据实际生产情况,静置时间的长短会对提取工艺产生影响;短时间的静置无法适应生产需要,故延长静置时间并考察不同静置时间对实验结果的影响。

### 3.4 提取溶剂

为适于生产,中药材提取的常用溶剂为乙醇和水。实验通过优选的最佳工艺,将溶剂70%乙醇改为水,并比较女贞子提取液中特女贞苷、齐墩果酸的

含量及浸膏得率。因特女贞苷更易溶于水,女贞子水提液中特女贞苷提取率为94.4%,高于女贞子醇提液;而齐墩果酸不溶于水,故女贞子水提液中齐墩果酸的提取率仅为17.7%,其含量明显低于女贞子醇提液;女贞子醇提液的浸膏得率比水提液高。综上,以特女贞苷、齐墩果酸的含量及浸膏得率为考察指标,女贞子醇提工艺明显优于其水提工艺。

在女贞子提取工艺的研究中,多以齐墩果酸或特女贞苷单一成分作为评价指标,以特女贞苷、齐墩果酸和浸膏得率为综合评价指标的研究尚未见报道。本实验不仅以正交试验优选最佳提取条件,而且考察粉碎度和提取液静置与否对提取液中各指标的影响,较全面地考虑药材提取生产环节中的影响因素,更充分保证了提取工艺的可行性。

### 【参考文献】

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部):2015年版[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.  
[2] 刘亭亭,王萌. 女贞子化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(14):228-234.  
[3] 李建芬. 中药女贞子研究进展[J]. 内蒙古中医药,2012,31(16):45-46.

[4] 郭姣,何伟,陈宝田,等. 复方参术调脂胶囊提取工艺的研究[J]. 中药材,2006,29(6):598-601.  
[5] 王奇,芦柏震. 齐墩果酸的研究进展[J]. 中国药房,2008,19(9):711-712.  
[6] 何新蕾,于栋. 响应面优化女贞子齐墩果酸提取工艺研究[J]. 食品工业,2014,35(7):92-95.  
[7] 常星洁,刘汉清,邹建荣,等. 响应面法优化女贞子有效成分的提取工艺[J]. 中成药,2012,34(5):839-842.  
[8] 郭宇洁,任焯,葛争艳,等. 正交试验法比较女贞子中齐墩果酸与特女贞苷的乙醇提取工艺[J]. 中成药,2013,35(2):277-281.  
[9] 张艳,陈健,陈海华,等. 正交试验法优选女贞子中特女贞苷的提取工艺[J]. 中国兽药杂志,2012,46(10):33-35.  
[10] 杨丽萍,陈继舜,李志浩. HPLC法测定女贞子至膏中特女贞苷的含量[J]. 儿科药学杂志,2012,18(7):40-42.  
[11] 赵蓉. 正交试验法优选女贞子中齐墩果酸的提取工艺[J]. 海峡药学,2007,19(12):18-20.  
[12] 彭婷婷,王卫华. 高效液相色谱法测定女贞子中齐墩果酸的含量[J]. 医学理论与实践,2011,24(20):2503-2505.  
[13] 任爱农,卢爱玲,田耀洲,等. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(4):372-374.

[收稿日期] 2018-10-31 [修回日期] 2018-12-28  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第200页)

[25] WANG K T, XU M Y, LIU W, et al. Two additional new compounds from the marine-derived fungus *Pseudallescheria ellipsoidea* F42-3[J]. Molecules,2016,21(4):442.  
[26] SHAO C L, XU R F, WANG C Y, et al. Potent Antifouling marine dihydroquinolin-2(1H)-one-containing alkaloids from the gorgonian coral-derived fungus *Scopulariopsis* sp[J]. Mar Biotechnol,2015,17(4):408-415.  
[27] 管华诗,韩玉谦,冯晓梅. 海洋活性多肽的研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),2004,34(5):761-766.  
[28] DAI Y, LIN Y, PANG X Y, et al. Peptides from the soft coral-associated fungus *Simplicillium* sp. SCSIO41209[J]. Phyto-

chemistry,2018,154:56-62.

[29] MA X, NONG X H, REN Z, et al. Antiviral peptides from marine gorgonian-derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO 41501[J]. Tetrahedron Lett,2017,58(12):1151-1155.  
[30] 崔承彬. 激活海洋真菌中沉默次级代谢产物的实验技术新方法探索[C]//2014年中国药学会大会暨第十四届中国药师周论文集. 石家庄,2014:82.  
[31] REEN F J, ROMANO S, DOBSON A D, et al. The sound of silence: activating silent biosynthetic gene clusters in marine microorganisms[J]. Mar Drugs,2015,13(8):4754-4783.

[收稿日期] 2018-10-02 [修回日期] 2019-03-04  
[本文编辑] 陈盛新