

健脑益智颗粒剂的提取工艺研究

杜守颖 吴清 王和东(北京中医药大学 100029)

摘要 采用 $L_9(3^1)$ 正交设计,以何首乌中的 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-o- β -D 葡萄糖甙含量为指标进行评分,优化健脑益智颗粒剂的提取工艺,结果表明:最佳提取条件为药料粉碎成黄豆粒大,75%乙醇回流 2 次,第 1 次 10 倍量回流 2h,第 2 次 8 倍量回流 1h。挥发油以 7 倍量水提取 12h 为宜。

关键词 健脑益智颗粒剂 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-o- β -D 葡萄糖甙 正交试验

A Study of the Extraction Process in Preparing Jiannaoyizhi Granule

Du Shouying, Wu Qing, Wang Hedong(Beijing University of TCM,100029)

Abstract: A study of the extraction process in preparing Jiannaoyizhi granule was carried out by orthogonal experimental design. The content of 2,3,5,4'-tetra hydroxystilben-2-o- β -D-glucoside and extraction rate were used as endpoints. The result showed that the best extraction process was as follow: Smash the crude drugs as big as soybean; reflux with 75% alcohol for 2 times; for the first time, 10 times alcohol was used for 2hr; the second time, 8 times alcohol used for 1hr, while for the extraction of volatile oil, 7 times water was used for 12hr.

Key words: Jiannaoyizhi granule, 2,3,5,4'-tetra hydroxystilben-2-o- β -D-glucoside orthogonal, experimental design

健脑益智颗粒剂由何首乌、黄芪、葛根、石菖蒲组成,具有补气健脑、益智开窍的功效。其中何首乌为君药。含有 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-o- β -D 葡萄糖甙,大黄素等蒽醌类^[1],二苯乙烯甙具有健脑、益智、降脂、抗衰老等多种活性。以前文献报道^[2]何首乌的质量标准,多以抗菌、消炎的大黄素为指标。本文为了确切反映何首乌的临床疗效,首次在提取过程中运用正交试验以何首乌中所含的 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-o- β -D 葡萄糖甙为指标,进行评分,优化了提取工艺。

1 仪器及试药

CS-9000 薄层扫描仪(日本岛津);真空干燥箱(北京化学试验仪器厂);二苯乙烯甙(中国医学科学院药物所植化室);硅胶 G 薄层层析板(青岛海洋化工厂),其它试剂均为分析纯。中药材(北京市东城区药材批发站)。

2 实验方法

2.1 首乌、黄芪、葛根提取工艺的优选

2.1.1 因素及其水平 根据药材所含有效成分的化学性质,采用乙醇回流的提取方法,根据提取过程中存在的问题,选用 $L_9(3^1)$ 正交试验表,以二苯乙烯甙含量、出膏率为指标,考察醇浓度、提取时间、溶媒用量、粉碎度对其影响。因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

水平	A 醇浓度(%)	B 提取时间(h)	C 溶媒量(倍)	D 粉碎度
1	95	2,1	10,8	10 目
2	75	2,2	8,8	黄豆粒
3	60	1,1	8,6	饮片

2.1.2 提取次数的设计 按优化的最佳工艺条件提取 3 次,每次提取液,回收乙醇,真空干燥,得干浸膏。

2.1.3 出膏率的测定 按正交试验表要求,将药材粉碎、加入一定浓度、一定量的乙醇,按规定时间回流,回收乙醇,真空干燥至恒重,称重,计算出膏率(平行操作 2 份),结果见表 2。

2.1.4 二苯乙烯甙的含量测定^[1] 薄层扫描条件:展开剂为醋酸乙酯:甲醇:水(20:2:1),上行展开8cm,在紫外灯254nm下观察斑点。 λ_s :290nm, λ_R :370nm,反射锯齿扫描, $SX=3$ 。

线性关系考察:精密称取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-o- β -D葡萄糖甙对照品1mg,用甲醇定容于1ml容量瓶中。吸取此对照品溶液1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 μ l,点于同一薄层板上,按上述条件展开,扫描测定,得回归方程, $Y=23575.32x+6714.11,r=0.9997$ 。二苯乙烯甙浓度在1 μ g~5 μ g范围内与斑点面积积分值呈线性关系。

供试品溶液的制备:精密称取上述的干浸膏1.5g,加入10ml甲醇,称重,超声提取20min,补加甲醇至原重量为供试品溶液。

样品含量测定:精密吸取供试品溶液1 μ l,对照品溶液1,3 μ l,交叉点于同一硅胶G板上,按上述条件展开,扫描测定,用外标二点法计算含量,结果见表2。

2.1.5 提取工艺条件的优选 以有效成分含量为指标,优选方法^[3]与结果见表2。

表2 正交试验结果表L₉(3⁴)

实验号	A	B	C	D	二苯乙烯甙含量 (mg/g)	出膏率 (%)
1	1	1	1	1	12.63	12.36
2	1	2	2	2	8.51	8.36
3	1	3	3	3	2.32	2.29
4	2	1	2	3	8.24	8.10
5	2	2	3	1	16.40	15.97
6	2	3	1	2	13.00	13.28
7	3	1	3	2	12.66	12.34
8	3	2	1	3	6.78	6.86
9	3	3	2	1	12.04	11.84
I,	46.47	66.33	64.91	81.24	CT=1880.4800	
II,	74.99	62.88	57.09	68.15	S _总 =278.336	
III,	62.52	54.77	61.98	34.59	S _r =0.2638	
S	68.14	11.74	5.20	192.99		

方差分析结果:方差分析见表3。

从以上方差分析结果可以看出:A、B、C、D因素均有极显著的影响,影响因素D>

A>B>C;且A₂、B₁、C₁、D₁为佳,但考虑到工厂大生产,粉碎的颗粒太小,易产生爆沸,故选次佳水平D₂。所以工艺条件为A₂B₁C₁D₂。

表3 方差分析

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
S _A	68.1386	2	34.0693	1162.3780	<0.01
S _B	11.7394	2	5.8697	193.4391	<0.01
S _C	5.2028	2	2.6014	88.7547	<0.01
S _D	192.9914	2	96.4957	3292.2450	<0.01
S _e	0.2638	9	0.02931		

提取次数的确定:按提取次数的设计制备干浸膏,按上法计算每次提取的出膏率,二苯乙烯甙含量,结果见表4。

表4 提取次数实验

提取次数	出膏率(%)	含量(mg/g)	提出率
1	17.17	13.88	81.41
2	4.04	2.31	13.55
3	1.52	0.86	5.04

从上表可见,提取2次以后,已占提出总量的94.96%,故提取2次即可。

验证实验:为了验证上述结果的准确性,重复已确定的工艺条件,实验结果见表5。

表5 验证实验结果

	出膏率(%)	二苯乙烯甙含量(mg/g)
1	21.23	16.18
2	21.21	15.92
3	21.27	16.46

从实验结果来看,二苯乙烯甙含量与正交表中最高含量无明显差异。

2.2 石菖蒲挥发油提取工艺的设计 将石菖蒲分别加入5,7,9倍量水,提取挥发油,每隔一定时间测定挥发油提取量。结果见表6。

表6 挥发油提取结果

加水 量(倍)	1	2	3	4	5	6	8	10	12	16h
5	2.1	2.4	2.7	3.0	3.2	3.4	3.6	3.6	3.7	3.7
7	2.1	2.3	2.8	3.0	3.5	4.0	4.6	4.6	4.7	4.7
9	1.6	2.1	2.2	2.7	2.8	3.0	3.3	3.3	3.4	3.5

选择加7倍量水,提取12h为宜。

2.3 制剂工艺的研究 将何首乌、黄芪、葛根的提取液,回收乙醇,真空干燥成干浸膏,粉碎成细粉。将石菖蒲水部分静置,取上清液浓缩成稠膏,真空干燥成干浸膏,粉碎成细粉。加入不同比例的糊精和挥发油 β -CD 包合物,进行制粒,结果如表 7。

表 7 颗粒成型结果

乙醇浓度(%)	干浸膏粉与糊精比例	成型情况
80	1:0.5	不易成型
	1:1	可以成型
	1:1.5	易成型
70	1:0.5	不易成型
	1:1	可以成型 (10月~5月)
	1:1.5	易成型

3 小结与讨论

在工艺考察中从实际出发,选取二苯乙烯甙含量为指标。经方差分析以及考虑生产实际因素等,综合分析确定其回流条件为 $A_2B_1C_1D_2$,且回流 2 次。即将药料粉碎成黄豆

粒,75%乙醇回流 2 次,第 1 次加入 10 倍量回流 2h,第 2 次加入 8 倍量回流 1h。挥发油提取加入 7 倍量水,提取 12h 为宜。

将上述回流提取物与挥发油提取后的水溶液分别制成干浸膏,粉碎成细粉,加入 1 倍量糊精,加入挥发油 β -CD 包合物,混匀,用 80%乙醇制成颗粒,包装。此颗粒剂提高了有效成分含量,降低了出膏率,减少了服用量,有可能提高临床疗效。

参考文献

- 1 黄泰康. 常用中药成分与药理手册. 北京:中国医药科技出版社,1994. 1054
- 2 马秀璟,马冬春,潘菡清,等. 薄层扫描法测定抗脑衰胶囊及何首乌中大黄素的含量. 中国中药杂志,1997,22(1):31
- 3 金丕焕. 医学统计方法. 上海:上海医科大学出版社,1993. 91

(收稿:1998-01-12)