

正交试验优选平糖胶囊 B 方的微波辅助提取工艺

李梅丽, 邵志宇*

(厦门大学附属第一医院药学部, 福建 厦门 361001)

[摘要] 目的: 优选平糖胶囊 B 方的微波辅助提取工艺。方法: 采用微波辅助提取平糖胶囊 B 方, 以栀子苷提取量为检测指标, 选择微波功率、料液比、提取时间、提取次数为考察指标, 通过正交试验优选微波辅助提取工艺。采用 HPLC 测定栀子苷含量, 色谱条件为 Diamonsil™ RP C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (11:89), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 238 nm, 柱温室温, 进样量 20 μL。结果: 最佳工艺条件为微波功率 15 kW, 料液比 1:5, 提取时间 20 min, 提取数 2 次, 栀子苷平均提取量 9.08 mg·g⁻¹。结论: 优选的微波辅助提取工艺具有高效、节能、省时等优点, 具有极大的工业化推广价值。

[关键词] 正交试验; 平糖胶囊 B 方; 微波提取工艺; 栀子苷; 单因素试验; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.6; R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0041-03

[doi] 10.11653/syfy2013220041

Optimization of Microwave-Assisted Extraction Technology for Pingtang Capsules B by Orthogonal Test

LI Mei-li, SHAO Zhi-yu*

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize microwave-assisted extraction technology of Pingtang capsules B. **Method:** Pingtang capsules B was extracted by microwave assisted technology, with yield of geniposide as index, choosing microwave power, material-liquid ratio, extraction time, extraction times as investigating factors, orthogonal test was adopted to optimize microwave assisted extraction technology. The content of geniposide was determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: Diamonsil™ RP C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile-water (11:89), flow rate 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength 238 nm, column temperature at room temperature, injection volume 20 μL. **Result:** Optimum extraction technology conditions were as follows: microwave power 15 kW, solid-liquid rate 1:5, extraction time 20 min, extraction 2 times; Under these conditions, average yield of geniposide was 9.08 mg·g⁻¹. **Conclusion:** Optimized microwave assisted extraction technology had advantages of high efficiency, energy saving and time saving with great application value for industrial production of Pingtang capsules B.

[Key words] orthogonal test; Pingtang capsules B; microwave extraction technology; geniposide; single factor test; HPLC

平糖胶囊 B 方是根据我院糖尿病专家杨叔禹教授的验方制备而成的复方中药制剂, 由知母、栀

子、黄连、大黄 4 味药材组成, 具有养阴清热、燥湿解毒的功效, 临床用于治疗消渴病属湿热内蕴证。我院采用平糖胶囊系列药物与降糖药相结合的中西医结合疗法治疗糖尿病, 以保护患者靶器官, 改善生存质量^[1-2]。栀子中栀子苷具有降血糖作用^[3-4], 故选取栀子苷作为考察指标。该制剂原提取工艺为水煎煮法, 提取效率较低, 杂质较多; 而微波辅助提取具有效率高、易于控温、低溶剂消耗等优点^[5]。本实

[收稿日期] 20130716(003)

[基金项目] 厦门市科技局科研项目 (3502Z20044013)

[第一作者] 李梅丽, 学士, 副主任药师, 从事药物制剂研究, Tel:15859268318, E-mail:limeili6968@163.com

[通讯作者] * 邵志宇, 学士, 副主任药师, 从事药物制剂研究, Tel:18859275989, E-mail:shaozhiyu@126.com

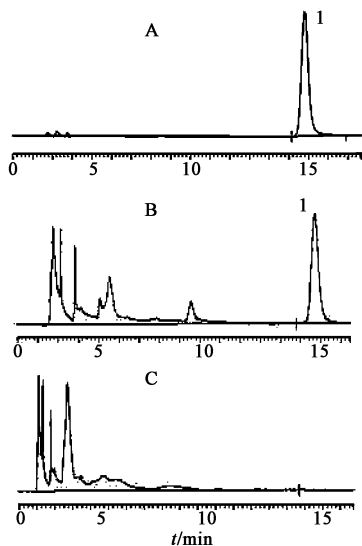
实验拟采用正交试验优选平糖胶囊 B 方的微波辅助提取工艺,为降低平糖胶囊 B 方的生产成本提供参考。

1 材料

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(德国戴安公司),RP C₁₈ 色谱柱(北京迪科马科技有限公司),AEG-220 型电子分析天平(日本岛津),BP211D 型电子天平(德国赛多利斯),HWC100L-B 型(广州兴兴微波能设备有限公司)。栀子苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110749-200511),知母、栀子、黄连、大黄(均购自厦门市鹭燕医药有限公司,经厦门大学附属第一医院李明贵副主任中药师鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下要求),乙腈为色谱级,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil™ RP C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(11:89),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 238 nm,柱温室温,进样量 20 μL。理论板数按栀子苷峰计算应不低于 3 000,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 栀子苷

图 1 平糖胶囊 B 方 HPLC

2.2 供试品溶液及阴性对照溶液的制备 取供试品粉末约 0.5 g,精密称定,精密加入 50% 甲醇 25 mL,超声提取 30 min,冷却至室温,加 50% 甲醇补足质量,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。阴性对照溶液参考文献[6]中方法制备。

2.3 标准曲线的绘制 精密称取干燥至恒重的栀

子苷对照品适量,加 50% 甲醇制成 139.2 mg·L⁻¹ 的储备液。精密量取该储备液 4.3 mL,置 20 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。精密量取储备液 1, 8, 12, 16, 20 mL,分别置于 20 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 27\ 275X + 58\ 167$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围 6.96 ~ 139.2 mg·L⁻¹。

2.4 单因素试验考察^[7-8]

2.4.1 微波功率 按处方比例称取知母、栀子、黄连、大黄适量,共 5 份,加 10 倍量水浸泡 30 min,分别于 2.5, 5, 10, 15, 20 kW 微波辅助提取 1 次,30 min,提取液减压浓缩成相对密度 1.25(50 ~ 60 °C) 的稠膏,加入等倍量 95% 乙醇,搅匀,静置过夜,取上清液,回收乙醇至无醇味,干燥得干膏,测定含量后计算栀子苷提取率。结果发现随着微波功率的提高,栀子苷提取率逐步增加,10 kW 时达最大值(2.41%),随后提取率逐渐降低,可能是由于微波功率过大,对栀子苷的破坏能力逐步增强。

2.4.2 料液比 固定微波功率 10 kW,提取时间 30 min,提取数 3 次,考察料液比分别为 1:2, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 对栀子苷提取率的影响,结果显示栀子苷提取率随料液比的提高逐步增加,料液比 1:20 时达 2.51%,与料液比 1:10 时(2.42%)相差较小,故选择料液比约 1:10。

2.4.3 提取时间 固定微波功率 10 kW,料液比 1:10,提取数 1 次,考察提取时间分别为 10, 20, 30, 40, 50 min 对栀子苷提取率的影响。结果表明随提取时间的增加,栀子苷提取率逐步增加,30 min 达最大(2.42%),之后随提取时间增加,栀子苷提取率逐步下降。

2.4.4 提取次数 固定微波功率 10 kW,料液比 1:10,提取时间 30 min,提取数分别为 1, 2, 3, 4, 5 次,计算栀子苷提取率分别为 2.42%, 5.72%, 5.86%, 5.89%, 5.91%。综合生产成本考虑,确定提取数 2 次左右。

2.5 正交试验优选 在单因素试验基础上,选择微波功率、料液比、提取时间、提取次数为考察因素,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,优选栀子苷最佳提取工艺^[9],因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

由直观分析可知,各因素对栀子苷提取量的影响顺序为 $D > A > B > C$ 。以极值最小的 C 因素

为误差项进行方差分析,结果表明 A, B, D 因素对栀子苷提取量均无显著性影响,最佳组合为 $A_3B_1C_3D_2$,但由于提取时间影响因素不显著,本着高效节能的原则,确定最佳提取方案为 $A_3B_1C_1D_2$,即微波功率 15 kW,料液比 1:5,提取时间 20 min,提取数 2 次。

表 1 平糖胶囊 B 方微波提取工艺正交试验因素水平

水平	A 微波功率 /kW	B 料液比 /g·mL ⁻¹	C 提取时间 /min	D 提取数 /次
1	5	5	20	1
2	10	10	30	2
3	15	15	40	3

表 2 平糖胶囊 B 方微波提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	栀子苷提取量 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	1.49
2	1	2	2	2	3.02
3	1	3	3	3	3.74
4	2	1	2	3	5.60
5	2	2	3	1	2.23
6	2	3	1	2	5.92
7	3	1	3	2	8.29
8	3	2	1	3	5.34
9	3	3	2	1	2.61
K_1	2.75	5.13	4.25	2.11	
K_2	4.58	3.53	3.74	5.74	
K_3	5.41	4.09	4.75	4.89	
R	2.66	1.60	1.01	3.63	

表 3 栀子苷提取量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	11.40	2	5.57	7.28	>0.05
B	3.94	2	1.97	2.57	>0.05
C(误差)	1.53	2	0.76	1.00	
D	21.67	2	10.84	14.16	>0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ 。

2.6 验证试验 按优选的提取工艺条件进行 3 次验证试验,结果栀子苷平均提取量 $9.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (RSD 1.89%),而原传统工艺的栀子苷提取量为 $4.07 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ [6]。

3 讨论

微波辅助提取技术是利用微波加热的特性来对物料中目标成分进行选择提取的方法。通过调节微波加热参数,可有利于目标成分的提取与分离。本实验采用微波辅助加热水提取法提取平糖胶囊 B

方,通过正交试验考察微波功率、料液比、提取时间以及提取次数等条件对栀子苷提取量的影响,得到平糖胶囊 B 方的最佳提取工艺,与传统煎煮法相比,栀子苷提取量大幅提升,具有高效、节能、省时等优点。

为提高提取效率、缩短提取时间,药材在提取前应先浸泡适当时间,让细胞内吸收水分,以利于更好地吸收微波能,达到升温与细胞破壁的目的,使有效成分充分逸出。通过预试验确定浸泡时间宜选 30 min。为提高栀子苷得率,提取前栀子应进行适当破碎,但不宜过细,否则会造成过滤困难。目前文献中大部分微波辅助提取优选均为实验室使用微波炉进行试验,所得数据在实际应用中还需进一步实践摸索;而本实验使用微波罐提取,所有参数均为中试数据,可直接应用于平糖胶囊 B 方的实际工业生产。

[参考文献]

- [1] 李学军,杨叔禹,郭灵祥,等.平糖胶囊对阴虚热盛型糖尿病患者生存质量影响的临床观察[J].光明中医,2008,23(11):1659.
- [2] 杨叔禹,李学军.平糖浓缩胶囊 D 方治疗糖尿病神经病变 37 例临床观察[J].福建中医药,2002,33(5):9.
- [3] 王志超,杨小龙,张珂,等.栀子苷药理作用的研究进展[J].河南科技大学学报:医学版,2012,30(2):159.
- [4] 郭曙军,赵志英.栀子苷的药理作用及其作用机制研究进展[J].包头医学院学报,2013,29(2):111.
- [5] 刘兴国,王信.微波技术在中草药有效成分提取中的应用与发展[J].光明中医,2010,25(8):1544.
- [6] 李梅丽,邵志宇,杨春源,等.高效液相色谱法测定平糖胶囊 B 中栀子苷的含量[J].中国医院药学杂志,2012,32(23):1927.
- [7] 纪耀华,纪跃芝,马爱民,等.微波法提取大黄多糖最佳工艺优化研究[J].中药材,2009,32(8):1291.
- [8] 陈金玉,尹蓉莉,陈海亭,等.单因素和正交试验结合优化当乌分散片中乌药的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):33.
- [9] 吴琼,代永刚,邹险峰,等.正交试验优化微波辅助提取人参根茎和人参须多糖[J].食品科学,2012,33(24):156.

[责任编辑 全燕]