

黄芪建中颗粒的提取工艺优选

张鹤¹, 初明², 丁然¹, 初正云^{1*}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁大连 116600; 2. 北京大学医学部基础医学院, 北京 100191)

[摘要] 目的: 优化黄芪建中颗粒的提取工艺。方法: 采用正交试验及响应面分析法, 以芍药苷提取量和干膏得率为指标, 考察中加水量、提取时间及提取次数等因素对黄芪建中颗粒提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺条件为加 8 倍量水提取 3 次, 每次 1 h, 芍药苷转移率达 87.4%。结论: 优选的提取工艺简单、经济、实用, 适合于黄芪建中颗粒有效成分提取。

[关键词] 高效液相色谱; 芍药苷; 正交试验; 响应面; 转移率

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0035-04

[doi] 10.11653/syfj2013110035

Optimization of Extraction Technology of Huangqi Jianzhong Granules

ZHANG He¹, CHU Ming², DING Ran¹, CHU Zheng-yun^{1*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine Pharmacy Department, Dalian 116600, China;
2. Department of Immunology, School of Basic Medicine, Peking University, Beijing 100191, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of Huangqi Jianzhong granules. **Method:** Water extraction technology was optimized by orthogonal design method and response surface method with yield of paeoniflorin and dry extract as indexes. Effects of the amount of water, extraction time and times on extraction technology of Huangqi Jianzhong granules was investigated, and extraction effect of this two methods was compared in order to choose the better one, transfer rate of paeoniflorin of 87.4%. **Result:** Optimum extraction procedure was: extracted 3 times with 8 folds of water, 1 hour each time. **Conclusion:** This process was simple, economical, practical and suitable for extraction of active ingredients from Huangqi Jianzhong granules.

[Key words] HPLC; paeoniflorin; orthogonal design; response surface; transfer rate

黄芪建中颗粒是在小建中汤的基础上加味黄芪, 经提取精制而成的中药颗粒剂。本方性偏甘温, 具有温建中焦营气、甘温除热之功效, 可广泛应用于气虚营气不足之证^[1]。本实验以方中君药白芍中所含芍药苷为指标性成分, 采用正交试验与响应面分析法考察各影响因素对提取工艺的影响, 为黄芪建中颗粒的临床推广提供实验依据。

1 材料

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公

司), 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110736-200934), 白芍(河北省安国药材批发市场, 经辽宁中医药大学翟艳君教授鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根), 乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 芍药苷含量测定^[2-3]

2.1.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 230 nm, 流动相乙腈-1% 磷酸水溶液(13:87), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 进样体积 10 μL。

2.1.2 供试品溶液制备 取干膏粉末 1 g, 精密加入甲醇 50 mL, 超声 30 min, 制成 0.02 g·mL⁻¹ 的溶液, 即得。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照

[收稿日期] 20121212(006)

[第一作者] 张鹤, 在读硕士, 从事新药开发研究, Tel: 15542599625, E-mail: greensk@126.com

[通讯作者] * 初正云, 教授, 硕士生导师, 从事中药资源与新药开发研究, Tel: 15542516538, E-mail: chuzhengyun@163.com

品 5.83 mg 置 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液适量,稀释后配成 0.233, 0.117, 0.058, 0.029, 0.015 g·L⁻¹ 的系列对照品溶液,按上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 68.175X + 1.130$ ($r = 0.9993$),表明芍药苷在 0.233 ~ 0.015 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.2 正交试验优选^[4] 在单因素试验基础上,精密称取处方量药材共 9 份,选取提取次数、加水量和提取时间为考察因素,以芍药苷提取量和干膏得率为指标,采用正交试验进行提取,提取液过滤,蒸干,研至粉末,精密称量 1 g 溶于 50 mL 甲醇中,超声处理,进样,测定。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 黄芪建中颗粒的提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取数/次	B 加水量/倍	C 提取时间/h
1	1	8	1
2	2	10	2
3	3	12	3

从干膏得率角度考虑,各因素对提取工艺的影响顺序为 $A > B > C$,最佳提取组合为 $A_2B_3C_1$;方差分析表明 A, B, C 因素各水平间均无显著性差异。以芍药苷提取量为指标,各因素对提取工艺的影响顺序为 $A > C > B$,最佳提取组合为 $A_3B_3C_2$;方差分析表明 A 因素有显著影响, B, C 因素影响不显著。综上所述并结合生产成本,确定正交试验优选的提取工艺组合为 $A_3B_1C_1$,即加 8 倍量水提取 3 次,每次 1 h。

2.3 响应面分析^[4] 以干膏得率和芍药苷提取量的综合评分为指标,权重系数依次为 0.3, 0.7。综合评分(OD) = (干膏得率 × 30% / 干膏得率最大值) + (芍药苷提取量 × 70% / 芍药苷提取量最大值)。在单因素试验基础上,采用 Box-Behnken 中心组合进行三因素三水平设计,因素水平见表 4,试验安排及结果见表 5。

应用 Design-Expert 8.05b 软件对表 5 中数据进行二次多元回归拟合,得二次多项回归方程 $Y = 41.17 + 50.41X_1 + 2.02X_2 - 0.33X_3 - 1.23X_1X_2 - 1.46X_1X_3 + 1.15X_2X_3 - 7.04X_1^2 - 3.32X_2^2 + 0.21X_3^2$,对上述回归模型进行方差分析,结果见表 6。各因素交互作用的等高线和响应图见图 1, 2。

表 2 黄芪建中颗粒的提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	芍药苷 提取量 /mg·g ⁻¹	干膏得率 /%
1	1	1	1	1	10.48	18.4
2	1	2	2	2	10.96	18.9
3	1	3	3	3	11.17	21.0
4	2	1	2	3	12.61	20.5
5	2	2	3	1	13.27	26.6
6	2	3	1	2	12.40	27.3
7	3	1	3	2	12.89	25.3
8	3	2	1	3	13.47	25.1
9	3	3	2	1	13.60	24.9
芍药苷 K_1	10.87	11.99	12.12	12.45		
提取量 K_2	12.76	12.57	12.39	12.08		
K_3	13.32	12.39	12.44	12.42		
R	2.45	0.27	0.32	0.37		
干膏 K_1	19.5	21.4	23.6	23.3		
得率 K_2	24.8	23.5	21.5	23.8		
K_3	25.1	24.4	24.3	22.2		
R	5.63	3.0	2.8	1.6		

表 3 正交试验方差分析

方差来源	因素	SS	f	F	P
芍药苷提取量	A	9.89	2	40.09	<0.05
	B	0.52	2	2.10	>0.05
	C	0.18	2	0.75	>0.05
	D(误差)	0.25	2	1.00	
干膏得率	A	61.30	2	14.66	>0.05
	B	14.30	2	3.44	>0.05
	C	13.40	2	3.22	>0.05
	D(误差)	4.16	2	1.00	

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

表 4 黄芪建中颗粒的提取工艺 Box-Behnken 中心组合设计因素水平

水平	X_1 提取时间/h	X_2 提取数/次	X_3 加水量/倍
-1	1	1	8
0	2	2	10
1	3	3	12

表5 黄芪建中颗粒的提取工艺 Box-Behnken

中心组合试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	芍药苷提取量 /mg·g ⁻¹	干膏得率 /%	OD
1	2.00	3.00	12.00	11.74	29.75	84.8
2	1.00	1.00	10.00	10.54	22.80	73.1
3	3.00	3.00	10.00	12.16	31.88	88.3
4	2.00	2.00	10.00	13.51	28.29	93.5
5	3.00	2.00	12.00	13.64	31.22	85.2
6	2.00	1.00	12.00	13.66	24.34	89.2
7	2.00	2.00	10.00	13.51	28.29	93.6
8	1.00	2.00	12.00	11.29	23.34	85.3
9	1.00	3.00	10.00	10.66	23.97	75.8
10	3.00	1.00	10.00	12.89	29.65	90.5
11	2.00	2.00	10.00	13.51	28.29	88.9
12	3.00	2.00	8.00	13.02	28.14	91.2
13	1.00	2.00	8.00	10.01	18.66	79.6
14	2.00	2.00	10.00	13.51	28.29	93.6
15	2.00	1.00	8.00	14.12	22.19	97.9
16	2.00	2.00	10.00	13.51	28.29	91.8
17	2.00	3.00	8.00	12.45	26.43	84.3

表6 回归方程方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	589.99	9	65.5	4.19	0.036
X_1	214.25	1	214.5	13.69	0.008
X_2	38.28	1	38.2	2.45	0.162
X_3	9.03	1	9.03	0.58	0.472
X_1X_2	6.00	1	6.00	0.38	0.555
X_1X_3	34.22	1	34.22	2.19	0.183
X_2X_3	21.16	1	21.16	1.35	0.283
X_1^2	208.68	1	208.68	13.34	0.008
X_2^2	46.27	1	46.27	2.96	0.129
X_3^2	0.030	1	0.030	1.944×10^{-3}	0.966
残差	109.53	7	15.65		
失拟项	92.90	3	30.97	7.45	0.041
误差	16.63	4	4.16		
总离差	699.52	16			

由表6可知,一次项中 X_1 对综合指标的线性效应极显著,各因素对综合指标的影响顺序为 $X_1 > X_2 > X_3$ 。二次项中 X_1^2, X_2^2 对综合指标的线性效应极显著,交互项中 X_1X_3, X_1X_2 对综合指标的线性效应显著,证明应用响应曲面法优化的提取工艺提取芍药苷是可行的。通过 Design-Expert 8.05b 软件进行分析,确定最佳条件为提取数 2.54 次,时间 1 h,加水量 8 倍。结合实际操作考察,确定提取条件为提取数 3 次,提取时间 1 h,加 8 倍量水。

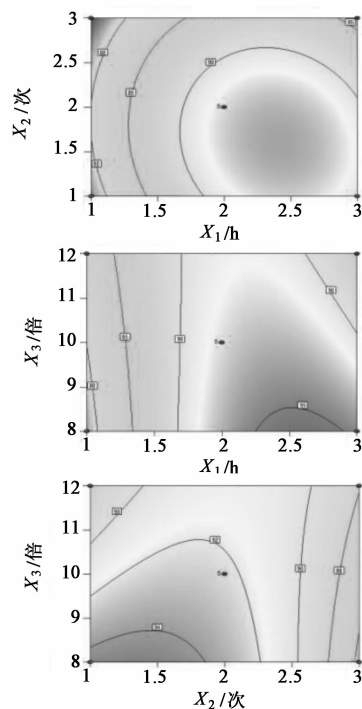


图1 提取时间、提取次数、加水量中两因素交互作用的对应等高线

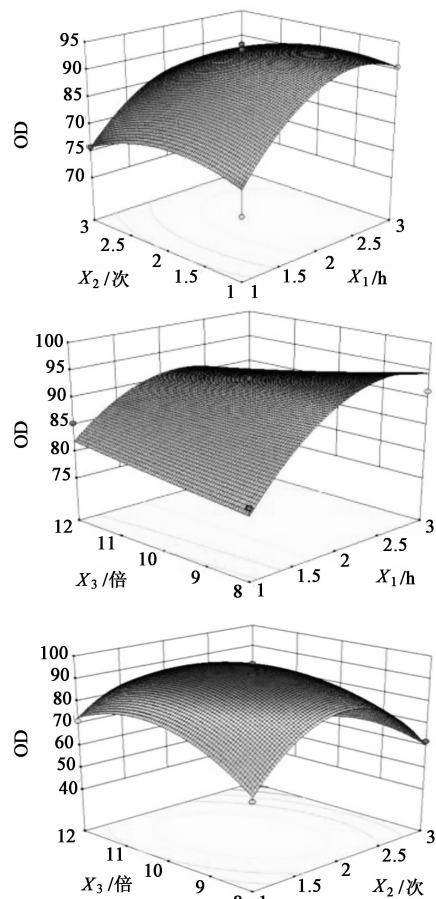


图2 提取时间、提取次数、加水量中两因素交互作用的响应面

苦柏妇炎栓精制工艺优选

姚琳, 高菲, 孙妍, 王伟明*

(黑龙江省中医研究院, 哈尔滨 150036)

[摘要] 目的: 优选苦柏妇炎栓的精制工艺。方法: 运用大孔吸附树脂法, 以盐酸小檗碱、苦参碱、蛇床子素含量为指标, 通过单因素试验筛选树脂型号及其精制工艺; 采用 HPLC 测定指标成分含量。结果: 采用 HPD-400A 型大孔吸附树脂, 其最佳精制工艺为树脂(干重)-药材质量(1:3), 上样液质量浓度 $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 上样液 pH 8, 洗脱流速 $1.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 加 5 BV 水洗脱, 之后分别用 5 BV 的 20% 乙醇和 40% 乙醇洗脱, 合并乙醇洗脱液, 减压回收, 干燥, 即得精制浸膏。结论: 经 HPD-400A 型大孔吸附树脂精制后, 栓剂载药量提高了 4.3 倍; 优选的精制工艺稳定可行, 可用于苦柏妇炎栓的工业化生产。

[关键词] 大孔吸附树脂; 盐酸小檗碱; 苦参碱; 蛇床子素

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0038-04

[doi] 10.11653/syfyj2013110038

Optimization of Purification Technology of Kubai Fuyan Suppositories

YAO Lin, GAO Fei, SUN Yan, WANG Wei-ming*

(Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Haerbin 150036, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize purification technology of Kubai Fuyan suppositories. **Method:** Macroporous resin method was adopted, with the content of berberine hydrochloride, matrine and osthole as index, type of macroporous resin and its purification technology was screened by single factor test. The content of indicators ingredients were determined by HPLC. **Result:** HPD-400A type macroporous resin was selected with

[收稿日期] 20121123(004)

[第一作者] 姚琳, 硕士, 主管药师, 从事中药制剂及新药研究, Tel/Fax: 0451-55665478, E-mail: yaoyao198003@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 王伟明, 博士, 研究员, 从事新药开发研究, E-mail: zyyjy@163.com

3 讨论

本实验分别应用正交试验法和响应面分析法分别对黄芪建中颗粒的提取工艺进行优化。选用正交试验时, 虽能得出优化结果, 但结果只能落在试验设计所选水平值上, 精度不够, 若水平值选择不恰当, 结果偏差太大; 而响应面分析法属于效应面法中一种设计, 其可在因素与响应值间建立数学模型, 通过对数学模型的处理得出多变量间的相互关系与影响因素^[5-7]。因此, 建议在进行提取工艺优选时, 尤其是复方制剂, 宜优先考虑选择响应面分析法。

[参考文献]

- [1] 吴禹池, 林启展. 小建中汤之功探析[J]. 光明中医, 2010, 25(2): 306.
- [2] 滕宇, 李正言, 初正云, 等. HPLC 法测定抗感片中芍药

苷的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(4): 140.

- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 508.
- [4] 段红, 翟科峰, 曹稳根, 等. 响应面法优化八角枫中水杨苷的提取工艺[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(5): 322.
- [5] 张璐, 翁立冬, 刘莉, 等. 正交试验法优选蛇床子渗漉提取的工艺条件[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 12.
- [6] 蒋志华, 俞力超, 冯子旺, 等. 响应面法优化仙鹤草总黄酮的超声提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 17.
- [7] 徐伟, 凌伟坚, 褚克丹, 等. 响应面法优化车前子油的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 2011, 36(23): 3253.

[责任编辑 仝燕]