

# 正交设计优化康视明合剂的提取工艺

徐玥, 周园明, 许伟英, 车京梅, 任世禾, 徐燕丰\*  
(上海市中医医院, 上海 200071)

[摘要] 目的: 优选康视明合剂的提取工艺。方法: 以葛根素、芍药苷含量为指标, 采用 HPLC 测定指标成分含量, 通过正交试验考察加水量、提取时间、提取次数对提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺为加 10 倍量水提取 3 次, 每次 60 min。结论: 该优选工艺稳定可行, 可推广于康视明合剂的工业化生产应用。

[关键词] 康视明合剂; 正交设计; 葛根素; 芍药苷

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)13-0032-03

[doi] 10.11653/syfy2013130032

## Optimization of Extraction Process for Kangshiming Mixtures With Orthogonal Design

XU Yue, ZHOU Yuan-ming, XU Wei-ying, CHE Jing-mei, REN Shi-he, XU Yan-feng\*  
(Shanghai Traditional Chinese Medicine Hospital, Shanghai 200071, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of Kangshiming mixtures. **Method:** With the content of puerarin and paeoniflorin as indexes, which were determined by HPLC, Orthogonal test was applied to optimizing extraction process with the amount of water, extraction time and times as factors. **Result:** The best extraction conditions were as follows: extracted 3 times with 10-fold the amount of water, 1 h each time. **Conclusion:** This optimized extraction process was reasonable and feasible, it could be extended to industrial production applications of Kangshiming mixtures.

[Key words] Kangshiming mixtures; orthogonal design; puerarin; paeoniflorin

康视明合剂为上海市中医医院院内制剂, 由党参、当归、白芍、黄柏、葛根、苍术、灵芝、枳壳、柴胡、甘草等 14 味中药组成, 具有益气升阳、聪耳明目之功效, 主要用于治疗视神经萎缩、视网膜动脉硬化等眼底疾患。该制剂临床应用多年, 疗效确切, 未发现明显不良反应。本实验以芍药苷、葛根素含量为考察指标, 采用正交试验考察固液比、提取时间和提取次数等因素对提取工艺的影响, 为该合剂的临床应

用提供参考。

### 1 材料

Agilent 1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司), AUV220D 型电子分析天平(日本岛津)。芍药苷、葛根素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110736-200629, 110752-200912), 党参、当归、白芍等药材(均购自上海华宇药业有限公司, 经上海华宇药业有限公司科技质量部按《上海市中药饮片炮制规范》2008 年版全项检验合格), 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 葛根素含量测定

**2.1.1 色谱条件** 迪马科技 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(25:75), 检测波长 250 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30

[收稿日期] 20130110(002)

[基金项目] 上海市卫生局中药新药及院内制剂研发项目(2011ZJ003)

[第一作者] 徐玥, 本科, 从事医药中药制剂研发, Tel: 021-56639828-4563, E-mail: yue\_sherry@126.com

[通讯作者] \* 徐燕丰, 博士, 副主任药师, 从事医院制剂研发及中药药理学研究, Tel: 021-56639828-4563, E-mail: yf\_xu@126.com

℃,进样量 10 μL。

**2.1.2 标准曲线的绘制** 精密称取葛根素对照品 10.3 mg,置 25 mL 量瓶中,用 25% 甲醇超声溶解,放冷,定容至刻度,摇匀,制成母液。精密吸取该母液适量,分别用 25% 甲醇稀释成质量浓度为 0.99, 1.98, 3.96, 11.87, 19.78, 39.55 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,按 2.1.1 项下方法进行测定。以对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 40.167X - 3.372$  ( $r = 0.9999$ ),表明葛根素质量浓度在 0.99 ~ 39.55 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.1.3 供试品溶液制备** 精密吸取该合剂样品 100 μL 置 10 mL 量瓶中,加 25% 甲醇适量,超声处理 20 min,放冷,定容至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

## 2.2 芍药苷含量测定

**2.2.1 色谱条件** 迪马科技 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05% 磷酸溶液 (14:86),检测波长 230 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。

**2.2.2 标准曲线的绘制** 精密称取芍药苷对照品 19.6 mg,置 10 mL 量瓶中,用甲醇超声溶解,放冷,定容至刻度,摇匀,制成母液。精密吸取该母液适量,用 25% 甲醇分别稀释为 3.92, 9.8, 19.6, 29.4, 39.2, 58.8 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,按 2.2.1 项下方法进行测定。以对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 26.385X - 26.044$  ( $r = 0.9998$ ),表明芍药苷质量浓度在 3.96 ~ 58.8 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.2.3 供试品溶液制备** 按 2.1.3 项下方法制备。

**2.3 正交试验优选** 按处方比例称取药材 9 份,每份 1.76 kg,选用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表,因素水平见表 1,选取固液比、提取时间、提取次数为考察因素。提取液分别浓缩并定容至 1 L,以葛根素和芍药苷含量为指标,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3,4。

表 1 康视明合剂提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 固液比	B 提取时间/h	C 提取数/次
1	1:6	0.5	1
2	1:8	1.0	2
3	1:10	1.5	3

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为  $C > A > B$ 。以葛根素和芍药苷含量为指标,方差分析表明因素 C 对提取工艺具有显著影响,因素

表 2 康视明合剂提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	葛根素 /g·L <sup>-1</sup>	芍药苷 /g·L <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1.055	1.622
2	1	2	2	1.628	1.926
3	1	3	3	1.894	2.160
4	2	1	2	1.531	2.075
5	2	2	3	2.026	2.517
6	2	3	1	1.141	1.478
7	3	1	3	2.001	2.452
8	3	2	1	1.288	1.860
9	3	3	2	1.999	2.369
葛根素	K <sub>1</sub>	1.526	1.529	1.161	
	K <sub>2</sub>	1.566	1.647	1.719	
	K <sub>3</sub>	1.763	1.678	1.974	
	R	0.237	0.149	0.813	
芍药苷	K <sub>1</sub>	1.903	2.050	1.653	
	K <sub>2</sub>	2.023	2.101	2.107	
	K <sub>3</sub>	2.210	1.986	2.376	
	R	0.307	0.115	0.723	

表 3 葛根素方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.096	2	3.692	>0.05
B	0.037	2	1.423	>0.05
C	1.036	2	39.846	<0.05
D(误差)	0.03	2		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$  (表 4 同)。

A, B 的影响则均无统计学意义。综合提取效率、能耗等考虑,选取了 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub> 和 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>, 并比较该二者的优劣。

**2.4 验证试验** 按处方比例称取药材 2 份,每份 1.76 kg,分别按 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub> 和 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub> 条件进行提取,结果测得葛根素质量浓度分别为 2.567, 1.752 g·L<sup>-1</sup>,芍药苷则分别为 2.830, 2.455 g·L<sup>-1</sup>,说明 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub> 为最佳提取方案。

## 3 讨论

葛根升发清阳能入阳明,则九窍通利,耳清目明;白芍敛阴养血柔肝,平抑肝阳。现代药理研究表明,葛根素具有扩张脑血管、改善脑供血作用以促进脑部组织细胞的修复<sup>[1]</sup>,通过促进 VEGF 表达而激活 VEGF 受体介导的下游通道以保护缺氧损伤的脑微血管内皮细胞<sup>[2]</sup>;芍药苷具有明显的降血糖作

## 岗松总黄酮的纯化工艺优选

邱宏聪<sup>1,2\*</sup>, 刘布鸣<sup>1,2</sup>, 孙翠<sup>1,2</sup>

(1. 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022;  
2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

**[摘要]** 目的: 优选岗松总黄酮的大孔吸附树脂纯化工艺。方法: 以总黄酮吸附率和洗脱率为指标, 采用 UV 测定总黄酮含量, 筛选最佳大孔吸附树脂, 并通过单因素试验考察岗松总黄酮的大孔树脂纯化工艺。结果: 采用 AB-8 型大孔吸附树脂对岗松总黄酮进行纯化, 其最佳工艺条件为上样液生药质量浓度  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 上样流速  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ , 上样体积 3 BV, 加 50% 乙醇 5 BV 以  $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速洗脱, 总黄酮纯度达 52.33%。结论: 优选的工艺合理可行, 适用于工业化生产。

**[关键词]** 岗松; 总黄酮; 大孔吸附树脂; 纯化

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0034-03

**[doi]** 10.11653/syfj2013130034

## Optimization of Purification Process for Total Flavonoids from *Baeckea frutescens* L.

QIU Hong-cong<sup>1,2\*</sup>, LIU Bu-ming<sup>1,2</sup>, SUN Cui<sup>1,2</sup>

(1. Guangxi Institute of Chinese Medical and Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China;  
2. Guangxi Key Laboratory of Quality Standards of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530022, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize purification process of total flavonoids from *Baeckea frutescens* L. by macroporous adsorption resin. **Method:** Different types of resin were selected with absorption and desorption ratio of total flavonoids as indexes, the content of total flavonoids was determined by UV, single factor test was adopted

**[收稿日期]** 20130115(005)

**[基金项目]** 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项(GZPT1229); 广西中药质量标准研究重点实验室主任基金(桂中重科 201105)

**[通讯作者]** \* 邱宏聪, 硕士, 助理研究员, 从事新药开发研究, Tel: 0771-5883405, E-mail: qiu hongcong@163.com

用<sup>[3]</sup>, 故根据该合剂的临床疗效, 选取葛根素和芍药苷含量为考察指标。

研究表明, 提取时间对葛根素的水提取工艺具有显著影响<sup>[4]</sup>。而本实验发现, 提取时间对葛根素的影响较小, 同时随着时间的延长, 导致了芍药苷含量略有下降, 说明芍药苷受热不稳定, 不宜长时间加热。而提取次数的考察与文献报道相似<sup>[5]</sup>。康视明合剂作为医院制剂, 其批准的提取方法为分别加 6, 4 倍量水煎煮 2 次, 与优选的提取工艺存在差异, 本实验结果将为该合剂制备工艺的改进提供实验支持。

### [参考文献]

[1] 郭密, 韦倩, 张仲君, 等. 中药葛根素抗缺氧及抗氧化

的药效学研究[J]. 解放军保健医学杂志, 2007, 9(2): 104.

[2] 陈冰, 李毅, 商悦. 葛根素对缺氧损伤的大鼠脑微血管内皮细胞凋亡和功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 72.

[3] 胡南, 许惠玉, 陈志伟, 等. 芍药苷的药理学研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(9): 1093.

[4] 王巧晗, 陆兔林, 马新飞, 等. 正交试验法优选颈通胶囊的水提工艺[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(2): 124.

[5] 张元元, 李进, 陈涛, 等. 暑热宁合剂提取工艺优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 49.

[责任编辑 仝燕]