

正交试验法优选小儿平喘祛痰颗粒提取工艺

杨德斌^{1,2}, 全燕¹, 马振山¹, 王琳¹, 董美虹^{1,2}, 李艳玲^{1,2}, 王锦玉^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 优选小儿平喘祛痰颗粒的提取工艺条件。方法: 以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷提取量及干膏得率为评价指标, 采用 HPLC 进行定量分析, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优选小儿平喘祛痰颗粒水提取工艺。结果: 最佳水提取工艺条件为加 10, 8, 8 倍量水提取 3 次, 提取时间依次为 1.5, 1, 1 h。结论: 该优选工艺稳定可行, 可用于小儿平喘祛痰颗粒的工业化生产。

[关键词] 小儿平喘祛痰颗粒; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 橙皮苷; 水提取; 正交试验; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0049-03

Optimization of Extraction Process of Xiaer Pingchuan Qutan Granule by Orthogonal Design

YANG De-bin^{1,2}, TONG Yan¹, MA Zhen-shan¹, WANG Lin¹,
DONG Mei-hong^{1,2}, LI Yan-ling^{1,2}, WANG Jin-yu^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process conditions of Xiaer Pingchuan Qutan granule. **Method:** Using extraction amount of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, hesperidin and yield of dry extract as indexes, HPLC was used to quantitative analysis, water extraction technology of Xiaer Pingchuan Qutan granule was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal design. **Result:** Optimum water extraction technology was as follows: extracted 3 times with 10, 8, 8 times the amount of water, extracted 1.5, 1, 1 h in turn. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and feasible, it could be used in industrial production of Xiaer Pingchuan Qutan granule.

[Key words] Xiaer Pingchuan Qutan granule; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; hesperidin; water extraction; orthogonal design; HPLC

小儿平喘祛痰颗粒为临床经验方, 由麻黄、苦杏仁、陈皮、贝母、半夏等 9 味药组成, 具有宣肺平喘、止咳祛痰之功效, 临床用于治疗小儿上呼吸道感染、急性慢性支气管炎、变异性哮喘等症, 且疗效显著。本

品原方为合剂, 临床应用效果显著, 麻黄为该制剂中的君药, 陈皮为臣药。研究表明, 麻黄具有宣肺平喘的功效, 陈皮具有燥湿化痰的功效, 与本颗粒剂的功能主治一致, 二者的主要活性成分分别为盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和橙皮苷。故本实验以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷 3 种成分及干膏得率的综合评分为考察指标, 采用正交设计优选小儿平喘祛痰颗粒的提取工艺条件。

1 材料

Waters 1515 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Sartorius)。

[收稿日期] 20120711(012)

[基金项目] 中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(2011XYCZ-07)

[第一作者] 杨德斌, 硕士, 从事中药制剂分析研究, Tel: 18710104227, E-mail: 641026952@qq.com

[通讯作者] * 王锦玉, 助理研究员, 从事中药新剂型研究, Tel: 13683284092, E-mail: jinyu024@163.com

盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷等对照品均购于中国食品药品检定研究院,批号分别为 171241-201007, 171237-200807, 110721-201014。小儿平喘祛痰颗粒(自制),甲醇为色谱纯,水为高纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交设计^[1] 以提取液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷及干膏得率为指标,对影响水煎工艺的煎煮次数、加水量、煎煮时间等主要因素进行考察。按处方比例称取各味药材,共称取 9 份,每份 110 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表 1,分别加水煎煮,合并提取液,冷藏静置,备用。

表 1 小儿平喘祛痰颗粒水提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 煎煮数/次	B 加水量/倍	C 煎煮时间/h
1	1	8	1
2	2	10	1.5
3	3	12	2

2.2 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验^[2] 采用 Phenyl Ether 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.092% 磷酸溶液(含 0.04% 三乙胺和 0.02% 二正丁胺)(1.5:98.5),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取于 105 °C 干燥 3 h 至恒重的盐酸伪麻黄碱、盐酸麻黄碱对照品适量,加甲醇分别制成 48.4, 51.6 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的配制 精密量取 2.1 项下所得正交样品溶液 5 mL,加甲醇定容至 10 mL 量瓶中,密塞,称定质量,超声处理 5 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

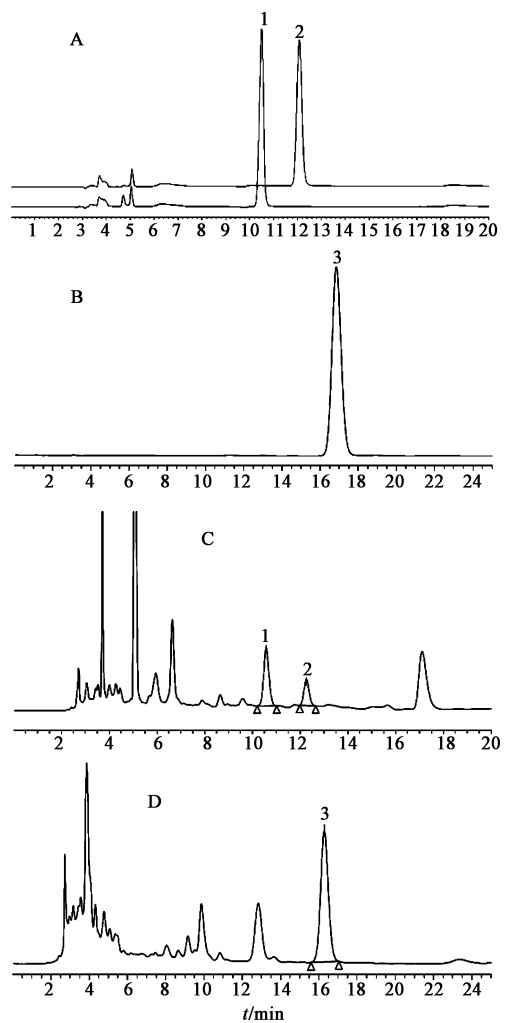
2.3 橙皮苷的含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适应性试验^[2] 采用 Topsil™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-乙酸-水(35:4:61),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 283 nm。见图 1。

2.3.2 对照品溶液的配制 精密称取橙皮苷对照品适量,加甲醇制成 82.8 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的配制 取 2.2.3 项下的制备溶液作为供试品溶液。

2.4 标准曲线的绘制 分别精密称取干燥至恒重的盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷对照品适量,



A, B. 对照品; C, D. 供试品; 1. 盐酸麻黄碱;
2. 盐酸伪麻黄碱; 3. 橙皮苷

图 1 小儿平喘祛痰颗粒 HPLC

加甲醇制成 0.314 4, 0.206 8, 0.391 g·L⁻¹ 的溶液,取对照品溶液适量加甲醇稀释成系列质量浓度,分别进样 10 μL,测定峰面积。以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷回归方程分别为 $Y = 2.1 \times 10^7 X + 7407.9$ ($r = 1.0000$), $Y = 2.6 \times 10^7 X + 8839.3$ ($r = 0.9997$), $Y = 1.6 \times 10^7 X + 17383$ ($r = 0.9997$),线性范围分别为 0.078 6 ~ 3.144 μg, 0.103 4 ~ 2.068 μg, 0.150 1 ~ 3.910 μg。

2.5 正交试验分析^[3] 试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 2 直观分析表明,各因素对提取工艺的影响为 $A > C > B$; 由表 3 方差分析表明,煎煮次数和煎煮时间有显著性影响,加水量无显著性影响。其中煎煮次数的 $K_1 K_2 K_3$ 两两相差较大,故选取最多煎煮次数 3 次,加水量和煎煮时间的 $K_1 K_2 K_3$ 两两相差较

表2 小儿平喘祛痰颗粒水提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	出膏率 /%	盐酸麻黄碱 /mg	盐酸伪麻黄碱 /mg	橙皮苷 /mg	综合评分
1	1	1	1	1	15.40	42.46	20.47	128.63	34.89
2	1	2	2	2	17.41	71.54	29.40	186.49	51.23
3	1	3	3	3	19.43	81.22	31.76	213.17	57.20
4	2	1	2	3	24.34	86.05	38.14	299.16	68.75
5	2	2	3	1	26.38	108.69	42.99	400.92	83.72
6	2	3	1	2	25.75	86.53	39.85	344.75	73.00
7	3	1	3	2	30.40	123.22	51.36	455.96	96.69
8	3	2	1	3	26.51	115.52	44.44	442.59	88.71
9	3	3	2	1	26.38	114.66	46.79	512.46	93.92
K_1	47.77	66.78	65.53	70.84					
K_2	75.16	74.55	71.30	73.64					
K_3	93.11	74.71	79.20	71.55					
R	45.34	7.93	13.67	2.80					

注:综合评分 = 出膏率/正交表中最高出膏率 $\times 10$ + 盐酸麻黄碱量/正交表中盐酸麻黄碱最高量 $\times 30$ + 盐酸伪麻黄碱量/正交表中盐酸伪麻黄碱最高量 $\times 30$ + 橙皮苷量/正交表中橙皮苷最高量 $\times 30$ 。

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	1 563.58	2	246.63	<0.01
B	61.69	2	9.73	
C	141.29	2	22.29	<0.05
D(误差)	6.34	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$, $F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

小,另外药材浸水需要一定的时间和体积同时为了节省时间和能源,经综合考虑首次加10倍量水煎选取1.5 h,第2,3次分别加8倍加水量水煎选取1 h。
2.6 验证试验 按处方比例称取药材3批,每批110 g,按优选的提取工艺条件进行3次验证试验。结果见表4。

表4 小儿平喘祛痰颗粒的提取工艺验证试验

批号	出膏率 /%	盐酸麻黄碱 /mg	盐酸伪 麻黄碱/mg	橙皮苷 /mg	综合 评分
120216	24.82	110.86	49.82	451.86	90.71
120217	25.37	124.94	52.63	487.26	98.03
120218	25.61	132.15	47.38	444.70	94.31

结果表明优选的提取工艺条件重复性好,且稳定可行。

3 讨论

复方小儿平喘祛痰颗粒中麻黄为君药,麻黄属植物中普遍含有苯丙胺类生物碱,该类成分一直以来被认为是麻黄的有效成分^[4],与本颗粒剂的功能主治一致。陈皮为臣药,其主要成分为橙皮苷。本试验采用正交设计法对复方小儿平喘祛痰颗粒中的4个指标成分进行考察,使结果更准确。优选的提取方法科学合理,可为复方小儿平喘祛痰颗粒的临床研究及工业生产提供实验依据。

[参考文献]

- [1] 张霞,王荣,杨建宏,等. 正交试验法优选复方芸归颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):36.
- [2] 中国药典.一部[S]. 2010:177,301.
- [3] 黄勇,张治蓉,乔希,等. 多指标综合评分法优选脑通颗粒提取工艺[J]. 中成药,2012,34(1):168.
- [4] 丁丽,施松善,崔健,等. 麻黄化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(20):1661.

[责任编辑 全燕]