

# 正交试验法优选中风活心软胶囊提取工艺

许良葵\*, 聂阳, 曾永玉, 李宗伟  
(广东食品药品职业学院, 广州 510520)

**[摘要]** **目的:** 优选中风活心软胶囊的提取工艺。**方法:** 采用水蒸气蒸馏法提取中风活心方中挥发油, 以挥发油得率为指标, 选取加水量、浸泡时间及蒸馏时间为考察因素, 通过正交试验优选挥发油提取工艺; 以葛根素含量为指标, 选取加水量、煎煮时间及提取次数为考察因素, 通过正交试验优化中风活心软胶囊的提取工艺。**结果:** 最佳挥发油提取工艺为加 6 倍量水, 不浸泡, 蒸馏提取 7 h; 中风活心软胶囊的最佳水提取工艺为加 10 倍量水煎煮 1.0 h, 提取 3 次。**结论:** 优选的提取工艺稳定可行, 可推广于大生产应用。

**[关键词]** 正交试验; 提取工艺; 中风; 挥发油; 葛根素

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0040-03

## Optimization of Extraction Technology for Zhongfeng Huoxin Soft Capsule by Orthogonal Test

XU Liang-kui\*, NIE Yang, ZENG Yong-yu, LI Zong-wei  
(Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Zhongfeng Huoxin soft capsule. **Method:** Volatile oil from Zhongfeng Huoxin prescription was extracted by steam distillation method, with yield of volatile oil as index, orthogonal test was adopted to optimize extraction technology with the amount of water, soaking time and distillation time as factors; With the content of puerarin as index, the amount of water, boiling time and extraction times were selected as factors, extraction technology of Zhongfeng Huoxin soft capsule was optimized by orthogonal test. **Result:** The best extraction technology of volatile oil was as follows: without soaking, distilled 7 h with 6 times the amount of water; optimum water extraction process of Zhongfeng Huoxin soft capsule was as follows: extracted 3 times with 10 times the amount of water, 1.0 h each time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and reliable, it could be extended to large-scale production application of Zhongfeng Huoxin soft capsule.

**[Key words]** orthogonal test; extraction process; stroke; volatile oil; puerarin

中风活心方源自古代临症方书《华佗神方》, 由独活、桂心、生葛根、炙甘草、防风、当归、赤芍、附子、半夏 9 味药组方, 具有温阳、养血通经络、助经气的功效, 对防治中风后患肢寒冷、麻木不仁、半身不遂等后遗症疗效较好<sup>[1]</sup>。目前该方多以汤剂用药, 但

服药量大、储存及携带不方便, 不适合中风临床用药的需要。为保留原方特色和成分, 遵从原方煎煮法提取药液, 同时兼顾部分药材挥发油的提取, 结合现代分离、纯化技术, 制成起效快且生物利用度高的软胶囊。本试验分别采用正交试验优化处方中挥发油及水提液的提取工艺, 为中风活心方的有效成分研究及软胶囊的制备奠定基础。

### 1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 葛根素对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110752-200912), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析

**[收稿日期]** 20120719(012)

**[基金项目]** 广东食品药品职业学院科研课题(2011YZ010)。

**[通讯作者]** \* 许良葵, 硕士, 讲师, 从事药物制剂研究, Tel: 020-28854941, E-mail: yang-020@hotmail.com

纯,独活、桂心、生葛根等9味中药均购自佛山市中药饮片厂有限公司,经广东食品药品职业学院宴亦林副教授鉴定,均符合2010年版《中国药典》一部相关项下要求。

## 2 方法与结果

**2.1 提取方式的确定** 原方为水煎煮汤剂入药,仅提取了其中的水溶性成分,忽略了方中独活、桂心、防风等药材含有一定量挥发油。故在遵从原方煎煮法的基础上,本试验将提取工艺分为两部分,即部分药材采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,之后采用水煎煮法提取全部药材。

**2.2 挥发油提取工艺优选** 所有药材均预先粉碎至蚕豆大小,按处方比例分别称取独活8g,桂心10g,防风4g,当归4g,赤芍2g,半夏3g,混合,加水浸泡,用挥发油提取器蒸馏提取。以加水量、浸泡时间、蒸馏时间为考察因素,因素水平见表1,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排回流试验,冷却,分离油层,加无水硫酸钠脱水,少量乙醚洗涤容器及硫酸钠,转移至已称定质量的蒸发皿中,水浴挥干乙醚,即得挥发油,称定质量,计算挥发油得率。试验安排及结果见表2,方差分析见表3。

表1 独活、半夏等药材中挥发油提取工艺  
优选正交试验因素水平

水平	A 加水量 /倍	B 浸泡时间 /h	C 蒸馏时间 /h
1	6	0	3
2	8	2	5
3	10	4	7

表2 独活、半夏等药材中挥发油提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	挥发油 得率/%
1	1	1	1	1	0.71
2	1	2	2	2	0.84
3	1	3	3	3	1.03
4	2	1	2	3	0.90
5	2	2	3	1	1.29
6	2	3	1	2	0.96
7	3	1	3	2	1.23
8	3	2	1	3	0.77
9	3	3	2	1	0.90
$K_1$	0.86	0.95	0.81	0.97	
$K_2$	1.05	0.97	0.88	1.01	
$K_3$	0.97	0.96	1.18	0.90	
R	0.19	0.02	0.37	0.11	

表3 挥发油提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.054	2	3.00	>0.05
B	0.001	2	0.056	>0.05
C	0.233	2	12.94	>0.05
D(误差)	0.018	2	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$ (表6同)。

直观分析表明,影响挥发油提取效果的因素主次顺序为 $C>A>B$ 。方差分析表明,3个因素均无显著性影响,综合能耗和生产效率确定挥发油的提取工艺为 $A_1B_1C_3$ ,即加6倍量水提取7h。

## 2.3 水提液提取工艺优选

### 2.3.1 葛根素的含量测定

**2.3.1.1 色谱条件**  $C_{18}$  ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m),流动相甲醇-水(75:25),检测波长250 nm,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量20  $\mu$ L,柱温室温。

**2.3.1.2 标准曲线绘制** 精密称取葛根素对照品5.5 mg,用甲醇定容于25 mL量瓶中,精密吸取0.0,0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL分别置于10 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,进样20  $\mu$ L,记录吸收峰面积。以峰面积为纵坐标,葛根素质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y=1\ 672.6X+4\ 586.3$ ( $r=0.999\ 8$ ),表明葛根素在2.2~22.0 mg·L<sup>-1</sup>呈良好线性关系。

**2.3.2 正交试验优选** 选取加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素,因素水平见表4,按处方比例称取生葛根16g,甘草4g,附子2g,与提取过挥发油的6种药材的药渣混合,按 $L_9(3^4)$ 正交表加水煎煮,滤过,滤液浓缩至250 mL,离心,取上清液加水定溶至250 mL,作为供试品溶液。试验安排及结果见表5,方差分析见表6。

表4 中风活心软胶囊水提液提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 提取数/次
1	8	0.5	1
2	10	1.0	2
3	12	1.5	3

由表5可知,影响挥发油提取效果的因素主次顺序为 $C>A>B$ 。方差分析表明,因素C具有显著性影响,因素A,B无显著性影响。综合考虑能耗及生产效率,确定提取工艺为 $A_2B_2C_3$ ,即加10倍量水煎煮提取3次,每次1.0 h。

**2.4 验证试验** 按处方量精密称取各味药材,按优

表 5 中风活心软胶囊水提液提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	葛根素质量分数 /mg·g <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	0.629
2	1	2	2	2	0.738
3	1	3	3	3	0.946
4	2	1	2	3	0.810
5	2	2	3	1	0.996
6	2	3	1	2	0.853
7	3	1	3	2	0.974
8	3	2	1	3	0.712
9	3	3	2	1	0.810
K <sub>1</sub>	0.771	0.804	0.728	0.811	
K <sub>2</sub>	0.886	0.812	0.786	0.855	
K <sub>3</sub>	0.828	0.869	0.972	0.820	
R	0.115	0.065	0.244	0.044	

表 6 水提液提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.020	2	6.667	
B	0.008	2	2.667	
C	0.097	2	32.333	<0.05
D(误差)	0.003	2		

选的挥发油及水提液提取工艺,分别进行 3 次验证试验,结果挥发油平均得率 1.31%,RSD 1.64%;葛根素平均质量分数 0.995 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 0.97%。说明优选的工艺稳定可行。

### 3 讨论

中风活心方以葛根为君药,用量最大,其主要药效成分为葛根素、葛根素木糖苷、大豆黄酮、大豆黄酮苷等,葛根素具有扩张冠状动脉、增加冠脉流量、

降低心肌耗氧量、刺激血液循环等作用,是临床常用心脑血管方剂、中成药的指标成分<sup>[2-5]</sup>。因此,本试验采用 HPLC 测定葛根素含量,作为提取工艺的评价指标。

中风是一种突然起病的脑血液循环障碍性疾病,具有发病急、病死率高的特点是世界上死亡率最高的三大疾病之一<sup>[6-7]</sup>。软胶囊具有生物利用度高、密封好、剂量精确等优点,已被广泛应用于中药开发。本试验既继承了原方水煎煮法的提取,又拓展了其中 6 味药材挥发油的提取,较全面的提取方中成分,提取液经后续纯化处理,与提取的挥发油制成混悬液,研制中风活心软胶囊,为患者提供一种安全、速效、高效的现代中药复方软胶囊制剂。

### [参考文献]

- [1] 李扬缜,黄桂兴. 华佗中风方治疗中风后遗症 54 例 [C]. 北京:世界卫生组织国际传统医药大会,2000.
- [2] 张乐平. HPLC 法测定葛根素注射液中葛根素的含量 [J]. 南京中医药大学学报,2004,20(2):122.
- [3] 邵陆,李振志,张岱洲. HPLC 法测定愈风宁心胶囊中葛根素的含量 [J]. 齐鲁药事,2004,23(4):23.
- [4] 陈丽红,唐于平,王强. 葛根苓连配方颗粒提取工艺研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(14):4.
- [5] 刘春旭,张颖,刘东春,等. HPLC 法快速测定通脉颗粒中葛根素和阿魏酸 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):44.
- [6] 张海燕,王建平. 中药应用于脑中风的研究进展 [J]. 中国药房,2010,21(3):276.
- [7] 唐学敏,朱艳. 加味芍药甘草汤合丁螺环酮治疗中风后小脑共济失调 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):275.

[责任编辑 全燕]