

加味藿香正气滴丸提取工艺研究

王凌¹, 周震^{2*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 首都医科大学, 北京 100069)

[摘要] 目的: 优化加味藿香正气滴丸提取工艺参数, 提高有效成分提取率。方法: 采用正交设计法对加味藿香正气滴丸进行提取工艺研究。结果: 广藿香等 5 味药挥发油提取的最佳工艺为用 10 倍水浸泡 0.5 h 后加热蒸馏 6 h; 厚朴的最佳工艺为用 8 倍 60% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h; 半夏等 7 味药与提取挥发油后的药渣混匀进行提取, 最佳工艺为加 6 倍水煎煮 3 次, 每次煎煮 1 h。结论: 该优化工艺稳定、合理、可行, 重复性好。

[关键词] 加味藿香正气滴丸; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0058-03

加味藿香正气滴丸是由软胶囊改剂型而得, 原处方来源于《中药新药部分标准》, 组方由广藿香、紫苏叶、白芷、白术(炒)、陈皮、半夏(制)、厚朴(姜制)、茯苓、桔梗、甘草、大腹皮、生姜、大枣等 13 味药味组成。具有解表化湿, 理气和中的作用。本文依据《药品注册管理办法》、《中药新药研究的技术要求》将其提取工艺条件进行优化筛选, 经相应的工艺研究, 表明提取工艺稳定, 监测指标科学合理等特点。

1 仪器与试剂

LC-10ATvp 型液相色谱仪 (SPD-M10Avp 型检测器, 日本岛津), TU-1901 型双光束紫外分光光度计 (上海棱谱仪器仪表有限公司), BP211D 电子天平 (sartorius), TGL-16G 型高速离心机 (上海安亭科学仪器), 所用药材 (非饮片) 购于安国市盛大医药药材有限公司, 经中国医学科学院药用植物研究所许扬副研究员鉴定均为正品, 甘草次酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 723-200612), 厚朴酚对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110729-200411), 和厚朴酚对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110730-200404), 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 称取广藿香、紫苏叶、白芷、白术、陈皮共计 980 g, 采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,

按照《中国药典》2005 年版挥发油测定法测定。选择药材浸泡时间、加水量、蒸馏时间作为考察因素, 以挥发油收率为指标, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验优化提取条件。因素水平表见表 1, 试验安排结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 1 挥发油提取的因素水平

水平	A 加水量/倍	B 蒸馏时间/h	C 浸泡时间/h
1	8	2	0.5
2	10	4	1.0
3	12	6	1.5

表 2 挥发油提取的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

No.	A	B	C	D(空白)	挥发油收率/%
1	1	1	1	1	0.74
2	1	2	2	2	0.83
3	1	3	3	3	0.88
4	2	1	2	3	0.83
5	2	2	3	1	0.86
6	2	3	1	2	0.89
7	3	1	3	2	0.80
8	3	2	1	3	0.83
9	3	3	2	1	0.9
K_1	2.45	2.37	2.46	2.50	
K_2	2.58	2.52	2.56	2.52	
K_3	2.53	2.67	2.54	2.54	
R	0.04	0.10	0.03	0.01	

直观分析表明, 各因素水平之间的极差大小依次为 $B > A > C$, 表明蒸馏时间对试验结果影响最大, 其次是加水量和浸泡时间。由于蒸馏时间对收率的影响具有显著效果, 故选择 B_3 ; 加水量对收率

[收稿日期] 20111020(742)

[基金项目] 首都医科大学基础临床合作项目 (11JL37)

[第一作者] 王凌, 从事中药新药研发, Tel: 010-64032656, E-mail: tcm60888440@126.com

[通讯作者] * 周震, E-mail: zhouzhenme@gmail.com

有一定的影响,但是效果不是非常显著,故选择 A_2 ; 浸泡时间对收率无影响,为节省生产时间,选择 C_1 ; 因此确定挥发油的提取条件为 $A_2 B_3 C_1$,即用 10 倍水浸泡 0.5 h 后加热蒸馏 6 h。

表 3 挥发油提取方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.002 87	2	0.001 44	10.29	
B	0.015	2	0.007 5	53.57	<0.05
C	0.001 87	2	0.000 94	6.71	
误差	0.000 27	2	0.000 14		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

2.2 厚朴的提取

2.2.1 厚朴酚与和厚朴酚的含量测定条件 参考相关文献和预试验结果^[1-2],选用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相甲醇-水(75:25),检测波长 294 nm,柱温 25 ℃。

2.2.2 因素和水平的确定 参考加味藿香正气软胶囊质量标准,选择 60% 乙醇为提取溶剂,考察了提取时间(A)、提取次数(B)、提取溶剂用量(C)3 个因素,每个因素取 3 个水平,见表 4。

表 4 厚朴提取的因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取数/次	C 提取时间/h
1	10	1	1
2	8	2	1.5
3	6	3	2

2.2.3 样品提取 考虑生产加工时药材多取粉后投料,称取厚朴粗粉 300 g,平行称取 9 份,按 $L_9(3^4)$ 正交试验表的工艺条件进行回流提取,得滤液。测定结果见表 5,方差分析见表 6。

表 5 厚朴提取的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

No.	A	B	C	D(空白)	提取率/%
1	1	1	1	1	75.26
2	1	2	2	2	84.24
3	1	3	3	3	91.51
4	2	1	2	3	74.27
5	2	2	3	1	81.69
6	2	3	1	2	87.78
7	3	1	3	2	73.03
8	3	2	1	3	78.01
9	3	3	2	1	83.61
K_1	251.01	222.56	241.05	240.56	
K_2	243.74	243.94	242.12	245.05	
K_3	234.65	262.90	246.23	243.79	
R	5.45	13.45	1.73	1.50	

表 6 厚朴提取方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	44.79	2	22.40	12.51	
B	271.54	2	135.77	75.85	<0.05
C	4.99	2	2.49	1.39	
D(误差)	3.58	2	1.79		

直观分析表明,各因素水平之间的极差大小依次为 $B > A > C$,表明提取次数对厚朴酚与和厚朴酚的溶出影响最大,其次是加水量和提取时间,最佳提取条件是 $A_1 B_3 C_3$ 。方差分析表明提取次数对提取率的影响具有显著效果,故选择 B_3 ;加水量对提取率有一定的影响,但是效果不是非常显著,故选择 A_2 ;提取时间对收率无影响,为节省生产时间和能耗,选择 C_1 ;因此确定挥发油的提取条件为 $A_2 B_3 C_1$ 。与最佳条件比较,提取率略低,但是可以节约大量的能源和工时,因此采用优化后的提取条件,即用 8 倍 60% 乙醇回流提取 3 次,每次 1 h。

2.3 水溶性成分的提取

2.3.1 甘草次酸的含量测定条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相甲醇-水-冰醋酸(79:20:1),流速 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 254 nm。

2.3.2 因素和水平的确定:以甘草次酸提取率为考察指标,以提取次数(A)、提取时间(B)和加水量(C)为考察因素,每个因素取 3 个水平,见表 7。

表 7 水煎因素水平

水平	A 提取数/次	B 提取时间/h	C 加水量/倍
1	1	1	6
2	2	1.5	8
3	3	2	10

2.3.3 样品提取 称取半夏、茯苓、桔梗、甘草、大腹皮、生姜及大枣共 958.7 g,与提取挥发油后的药渣混合均匀,平行称取 9 份,按表 7 的工艺条件进行煎煮提取,得滤液。测定结果见表 8,方差分析结果见表 9。

直观分析的极差可以看出,影响甘草次酸提取率的因素顺序为 $A > B > C$ 。方差分析表明,提取次数对甘草次酸的提取率影响最大,选择 A_3 ;提取时间和加水量对甘草次酸的提取率影响无显著性,为节约能耗,选择 B_1 和 C_1 。因此确定优化后的提取条件为 $A_3 B_1 C_1$,即加 6 倍水煎煮 3 次,每次煎煮 1 h。

2.4 验证试验

采用优化后的提取条件对 3 个部

表 8 水煎的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

No.	A	B	C	D(空白)	提取率/%
1	1	1	1	1	62.06
2	1	2	2	2	65.84
3	1	3	3	3	72.71
4	2	1	2	3	83.34
5	2	2	3	1	83.52
6	2	3	1	2	84.25
7	3	1	3	2	88.61
8	3	2	1	3	87.11
9	3	3	2	1	89.37
K_1	200.61	234.01	233.42	234.95	
K_2	251.11	236.47	238.55	238.70	
K_3	265.09	246.33	244.84	243.16	
R	21.49	4.11	3.81	2.74	

表 9 水煎的方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	767.04	2	383.52	68.12	<0.05
B	28.34	2	14.17	2.52	
C	21.81	2	10.91	1.94	
D(误差)	11.26	2	5.63		

分分别重复试验 3 次,结果挥发油的平均收率为 0.88%;厚朴酚与和厚朴酚的平均提取率为 88.62%;甘草次酸的平均提取率为 87.95%。从试验结果可以看出,3 批样品无论是出膏率还是有效成分的提取率都比较稳定,说明批间差异较小,提取工艺参数稳定可行,能为后期的滴丸的制剂成型研究提供稳定的、均匀的原料,可有效保证产品的质

量。同时产品的工艺条件可重复性强,有利于工厂的放大生产。

3 讨论

本实验对加味藿香正气滴丸提取制备工艺进行了研究,以各部分的主要有效成分为指标,设计优选了加味藿香正气滴丸有效成分的最佳提取工艺;运用 HPLC 和挥发油测定法对优化的过程进行监测,确定了加味藿香正气滴丸有效成分提取的工艺路线。

本方由广藿香、紫苏叶等 13 味药材组成,用于胃肠型感冒,属“外感风寒,内伤湿滞”者。方中药味既有水溶性成分,又有醇溶性成分,同时尚含有挥发性成分,目前尚无一个有利的条件同时对这三类成分进行提取。笔者针对此三类成分的特点,分别设计不同的提取方法,充分增加了处方有效物质的提取率,保障了加味藿香正气滴丸的有效性。

[参考文献]

- [1] 姜宁,刘晓鹏,龚敏,等. 加味藿香正气丸中厚朴酚与和厚朴酚提取及含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(17):1520.
- [2] 张小兵,任锦文,汤莉,等. 加味藿香正气丸的质量标准研究[J]. 解放军药学报, 2007, 23(4):291.
- [3] 苏健,王宝琴. 厚朴及其制剂中厚朴酚、和厚朴酚含量测定方法研究综述[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(9):35.
- [4] 高青枝,华玉琴,王友兰,等. 高效液相色谱仪测定调胃合剂中厚朴酚、和厚朴酚的含量[J]. 中国医师杂志, 2002, 4(8):895.
- [5] 李燕敏,高旭年. HPLC 法测定厚朴制剂中厚朴酚与和厚朴酚的含量[J]. 中国药学报, 2001, 29(2):61.

[责任编辑 仝燕]