

正交试验优选芪句颗粒水提取工艺

朱秉亮, 梁惠珍, 门九章*
(山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] 目的: 优选芪句颗粒的提取工艺。方法: 以黄芪甲苷含量和出膏率为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计优选芪句颗粒提取工艺。结果: 最佳水提取工艺为加 18 倍量水提取 2 次, 每次 1 h。结论: 该优选工艺合理可行。

[关键词] 芪句颗粒; 黄芪甲苷; 高效液相色谱法; 正交试验

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)10-0047-02

Optimization of Water Extraction Technology for Qiju Granule by Orthogonal Test

ZHU Bing-liang, LIANG Hui-zhen, MEN Jiu-zhang*
(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of Qiju granule. **Method:** With the content of astragaloside IV and extract rate as indexes, extraction process was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal method. **Result:** Optimum extraction technology of Qiju granule was as follows: extracted 2 times with 18 times the amount of water, 1 h each time. **Conclusion:** This optimized extraction process was reasonable and feasible.

[Key words] Qiju granule; astragaloside IV; HPLC; orthogonal test

芪句颗粒是门九章教授经多年临床运用、反复实践的制剂, 由黄芪、当归、金银花、夏枯草、甘草等药物提取精制而成, 具有益气养血、凉血解毒的功效, 用于过敏性紫癜(中医辨证为气阴两虚型)疗效明显。国内外对过敏性紫癜的研究颇多, 有学者认为是Ⅲ型变态反应^[1], 但是也有文献表明^[2], 该疾病很可能与Ⅰ型变态反应有关, 除从免疫学机制外, 有学者从炎症机制和凝血机制^[3]等方面对本病做了探讨, 但均未有重大突破。一般认为, 本病与遗传^[4]、免疫^[5]、内分泌功能紊乱、机体微循环障碍相关。本制剂正是基于此的探索与研究。黄芪是方中君药, 其主要成分黄芪甲苷是增强机体免疫功能的主要活性成分之一, 常用作质量控制的主要指标。

本文即以黄芪甲苷含量及出膏率为评价指标, 通过正交试验法考察溶剂量、煎煮时间、煎煮次数对黄芪甲苷提取量的影响, 以确定芪句颗粒的最佳提取工艺。

1 材料

1200 型高效液相色谱仪(G1311A 四元泵, G1316A 柱温箱, HP Chemstation 色谱工作站, 美国 Agilent), 黄芪甲苷对照品(批号 110781, 供含量测定用, 中国药品生物制品检定所), 乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄芪甲苷含量测定^[6]

2.1.1 色谱条件 ZORBAX Extend-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(38:62), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 理论塔板数以黄芪甲苷峰计算不低于 4 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成 0.5 g·L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取相当于 4 g 黄芪药材的样品, 置锥形瓶中, 加甲醇 40 mL, 超声

[收稿日期] 20110807(003)

[基金项目] 太原市科技明星专项(09121015)

[第一作者] 朱秉亮, 在读硕士研究生, Tel: 18935156163, E-mail: zhubingliang@163.com

[通讯作者] * 门九章, 教授, 博士生导师, 从事疑难病的方证规律研究, Tel: 0351-2272628, E-mail: 18935156163@qq.com

处理 40 min, 放冷, 滤过, 加甲醇适量洗涤滤渣及滤纸, 合并甲醇液, 蒸干, 残渣加水 10 mL, 微热使溶解, 用水饱和正丁醇溶液振摇提取 4 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 1% 氢氧化钠溶液洗涤 5 次, 每次 20 mL, 弃去氢氧化钠液, 正丁醇饱和的水洗涤至中性。正丁醇层水浴蒸干, 甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀即得。

2.1.4 线性关系考察 精密称取黄芪甲苷对照品溶液 2, 4, 8, 16, 20, 25 μL , 注入色谱仪, 按 2.1.1 项条件下进样测定, 记录峰面积。以峰面积的自然对数值 (Y) 为纵坐标, 黄芪甲苷质量的自然对数 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得方程 $Y = 1.4309X + 3.1293$ ($r = 0.9997$), 表明黄芪甲苷在 0.27 ~ 5.50 μg 线性关系良好。

2.2 水提取工艺正交试验 根据预试验结果, 选择溶剂量 (A)、煎煮时间 (B)、提取次数 (C) 为考察因素, 以黄芪甲苷为主要指标, 出膏率为参考指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验设计, 因素及水平安排见表 1。

表 1 芪句颗粒水提取工艺正交试验因素水平

水平	A 溶剂量/倍	B 提取时间/h	C 提取数/次
1	16	0.5	1
2	18	1	2
3	20	1.5	3

表 2 芪句颗粒水提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	出膏率 /%	黄芪甲苷 提取量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	综合评分 /%
1	1	1	1	1	17.6	0.020	26.32
2	1	2	2	2	32.4	0.130	96.78
3	1	3	3	3	30.2	0.114	86.48
4	2	1	2	3	25.3	0.101	75.30
5	2	2	3	1	33.1	0.118	91.19
6	2	3	1	2	26.8	0.065	57.99
7	3	1	3	2	26.5	0.101	76.39
8	3	2	1	3	25.8	0.075	62.27
9	3	3	2	1	31.9	0.135	98.91
K_1	69.860	59.337	48.860	72.140			
K_2	74.827	83.413	90.330	77.053			
K_3	79.190	81.127	84.687	74.683			
R	9.330	24.076	41.470	4.913			

注: 出膏率评分 = 出膏率/最大出膏率 $\times 0.3 \times 100$, 黄芪甲苷评分 = 黄芪甲苷提取量/最大黄芪甲苷提取量 $\times 0.7 \times 100$, 综合评分 = 出膏率评分 + 黄芪甲苷评分。

分别按照比例称取药材各 9 份, 每份共 80 g, 浸泡 0.5 h, 按正交设计要求加入溶剂, 提取, 过滤, 并浓缩至一定体积, 置水浴锅浓缩成稠膏, 于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱干燥。试验结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	P
A	130.755	2	3.609	>0.05
B	1 059.719	2	29.253	<0.05
C	3 035.158	2	83.784	<0.05
D(误差)	36.23			

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

由结果可知, 各因素影响顺序为 $C > B > A$, 确定最佳工艺为 $A_3B_2C_2$, 结合方差分析结果, 提取次数和煎煮时间具有显著性差异, 溶剂量无显著性差异, 综合考虑到节能和防止糊锅等因素, 最终确定最佳工艺为 $A_2B_2C_2$, 即加 18 倍量水提取 2 次, 每次 1 h。

2.3 验证试验 按确定的工艺条件提取, 投料量不变, 平行 3 份, 验证最佳工艺的可行性。结果黄芪甲苷提取量分别为 0.131, 0.130, 0.135 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。说明优选的提取工艺较稳定可行。

3 讨论

溶剂量无统计学差异, 可能是由于加水量偏大的原因造成的, 但方中夏枯草属于草本类植物, 质轻体大, 加水量偏少容易糊锅, 故溶剂量的水平设计需要根据实际的实验过程设定。本文从出膏率和黄芪甲苷提取量 2 个方面考察影响芪句颗粒水煎煮提取工艺的因素, 使优选出的工艺更可靠, 更合理。

[参考文献]

- [1] 顾瑞金. 变态反应学[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2000: 430.
- [2] 吴舒华, 江华. 过敏性紫癜患儿血 IFN- α , IL-2, IL-4 的变化[J]. 中华中医学杂志, 2002, 26(2): 81.
- [3] 陈述枚, 莫樱. 过敏性紫癜肾炎的病因和发病机制[J]. 中华儿科杂志, 2001, 16(4): 193.
- [4] 于少飞, 任少敏. HLA 与过敏性紫癜遗传易感性研究进展[J]. 内蒙古医学杂志, 2005, 37(6): 530.
- [5] 赵述胜. 过敏性紫癜患儿免疫功能异常变化[J]. 中国免疫学杂志, 1998, 14(1): 73.
- [6] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用. 第 2 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 778.

[责任编辑 全燕]