

阿归养血方连续逆流提取工艺优选

易航^{*}, 何纯斌, 彭常春, 文万江, 邹武斌, 赵有红, 陈慧
(江西济民可信药业有限公司, 江西 宜春 336000)

[摘要] 目的: 优选阿归养血方连续逆流提取工艺。方法: 以阿魏酸含量及浸膏量为考察指标, 采用 HPLC 进行阿魏酸含量测定, 经多指标综合评分法结合正交设计, 考察提取时间、料液比、乙醇体积分数以及提取温度等因素, 确定阿归养血方连续逆流提取最佳工艺。结果: 最佳提取工艺为料液比 1:16 (相当于每级为 1:4), 乙醇体积分数 60%, 提取时间 20 min, 提取温度 40 ℃。结论: 优选的提取工艺稳定、可靠, 为阿归养血方相关研究提供一定科学依据。

[关键词] 阿归养血方; 连续逆流提取; 阿魏酸

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0052-03

Optimization of Continuous Countercurrent Extraction Process of Egui Yangxue Prescription

YI Hang^{*}, HE Chun-bin, PENG Chang-chun, WEN Wan-jiang, ZOU Wu-bin, ZHAO You-hong, CHEN Hui
(Jimin Kexin Pharmaceutical Co. Ltd, Yichun 336000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize continuous countercurrent extraction process of Egui Yangxue prescription. **Method:** With the content of ferulic acid and the amount of extract as indexes, the content of ferulic acid was determined by HPLC, optimum continuous countercurrent extraction process of Egui Yangxue prescription was determined by multi-index comprehensive evaluation method and orthogonal design. Factors of extraction time, solid-liquid ratio, the concentration of ethanol and extraction temperature were investigated. **Result:** Optimum extraction process was: solid-liquid ratio of 1:16 (equivalent to each level liquid ratio of 1:4), extracted 20 min with 60% ethanol under extraction temperature of 40 ℃. **Conclusion:** This optimized extraction process was stable and reliable, and it could provide scientific basis for relative research of Egui Yangxue prescription.

[Key words] Egui Yangxue prescription; continuous countercurrent extraction; ferulic acid

阿归养血方颗粒剂收载于《中华人民共和国药品标准中药成方制剂第十二册》,由当归、阿胶、党参、白芍等药材组成,具有补气养血之功效,主要用于面色萎黄、头晕乏力、肌肉消瘦等症^[1]。逆流提取技术是指药材与溶剂在浸出容器中反向运动,连续而充分地进行接触提取的方法,具有浸出速度快、浸出效率高、能耗低等优点。本研究应用连续逆流提取技术替代传统的渗漉法提取工艺,采用多指标综合评分法结合正交试验设计,优选阿归养血方连

续逆流提取工艺。

1 材料

GD-TQ/2/N2 型连续逆流设备(山东济宁金百特工程机械有限公司),BT25S 型电子分析天平(德国 Startorius 公司),1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦),阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110773-201012),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

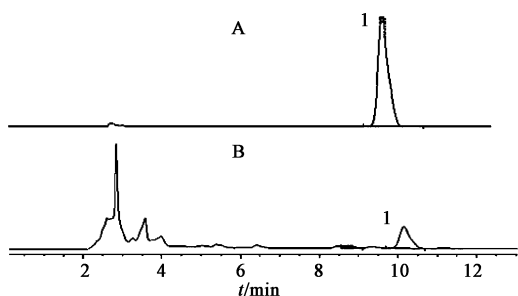
2 方法与结果

2.1 阿魏酸含量测定^[2-4]

2.1.1 色谱条件 依利特 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.085% 磷酸溶液(17:83),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长,316 nm,柱温 35 ℃,进样量 10 μL。色谱图见图 1。

[收稿日期] 20111226(005)

[通讯作者] ^{*} 易航,硕士研究生,从事中药质量控制及中药新剂型研究, Tel: 0795-3137964, E-mail: yihang08@163.com



A. 对照品; B. 样品; 1. 阿魏酸

图1 阿归养血干膏 HPLC

2.1.2 对照品溶液的制备 取阿魏酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加70%甲醇制成质量浓度 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液制备 取干膏研磨后粉末约1 g,精密称定,置50 mL棕色量瓶中,加70%甲醇适量,超声30 min,放冷,加70%甲醇稀释至刻度,即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 分别取质量浓度为2.05, 5.125, 10.25, 20.5, 30.75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液进样 $10\ \mu\text{L}$,测定阿魏酸峰面积。以峰面积为纵坐标(Y),其质量浓度为横坐标(X),建立回归方程 $Y=50.37X+9.3325(r=0.9998)$ 。表明在2.05~30.75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与峰面积有良好的线性关系。

2.1.5 精密密度试验 取2.1.2项下对照品溶液连续进样5次,每次 $10\ \mu\text{L}$,测定阿魏酸峰面积,结果RSD 1.15%。说明仪器精密密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取同1份供试品溶液分别于0, 2, 4, 8, 12 h进样 $10\ \mu\text{L}$,测定阿魏酸的峰面积, RSD 1.54%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.1.7 重复性试验 取同1份样品,按2.1.3项下供试品溶液的制备方法分别制备6份,测定阿魏酸的含量,结果RSD 1.04%,说明该方法重复性好。

2.1.8 加样回收率试验 取已知含量的阿归养血干膏约0.25 g,精密称定6份,分别精密加入阿魏酸对照品溶液1.0 mL,按2.1.3项下供试品溶液制备方法制备,测得阿魏酸的含量,测定结果见表1。

2.2 连续逆流提取工艺研究^[5-6]

2.2.1 药材粒度和提取组数考察 称取处方量混合药材共2.65 kg,阿胶除外,分别粉碎成粗粉、中粉、细粉,置连续逆流提取设备中,在相同工艺下提取,以提取液中的阿魏酸含量为考察指标。结果表明,中粉规格的药材粒度提取效果更佳,可能中粉与溶媒的接触表面积大于粗粉,提取效率增高,当进一步粉碎,由于药材粉末结块,不利于溶媒的渗入,进

表1 阿魏酸加样回收率试验

样品量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.250 4	0.227 8	0.225 5	0.452 5	99.63	99.7	1.13
0.251 2	0.228 6	0.225 5	0.452 4	99.25		
0.249 7	0.227 2	0.225 5	0.453 6	100.38		
0.255 0	0.232 0	0.225 5	0.453 9	98.39		
0.249 9	0.227 5	0.225 5	0.456 6	101.62		
0.250 1	0.227 6	0.225 5	0.451 2	99.18		

而提取效率下降。故本研究采用中粉规格药材粒度。

逆流提取一般采用3个以上的提取单元,其中4~7个单元最为常用,本研究采用单级试验方法来考察提取单元的组数,即以第1份药材的提取液来提取后续的每1份药材,测定每次提取液中阿魏酸的含量。取适量中粉规格的处方量混合药材,置连续逆流提取设备中,料液比1:16,每次提取30 min。结果表明,溶媒在提取4次后,药液已近饱和,再增加提取级数,效果不大,故确定逆流提取级数为4级。

2.2.2 正交试验设计 本研究主要考察影响提取工艺的关键参数,即每级提取时间、料液比、乙醇体积分数、温度等,每个因素设置3个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,以一定比重的浸膏量和浸膏中阿魏酸含量为评价指标,考虑到复方中其他物质亦能提取出来,可能为有效物质,设定其加权系数分别为0.5,0.5,最高值为50分,最低值为0分,按等比计算,采用综合加权评分法,优选阿归养血颗粒的最佳提取工艺。正交设计因素水平见表2。

表2 阿归养血颗粒连续逆流提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取时间/min	B 加醇量/倍	C 乙醇体积分数/%	D 提取温度/℃
1	20	8	40	40
2	30	12	50	50
3	40	16	60	60

按正交设计表要求,取5倍处方量中粉混合药材,置连续逆流提取设备中提取,收集提取液,过滤,减压回收乙醇,浓缩至一定比重,置真空干燥器中干燥,称重,即得。正交试验设计见表3,方差分析见表4。

由结果可知,以综合评分为考察指标,采用极差

直观分析显示影响因素大小为 $B > C > A > D$; 方差分析结果表明, B 和 C 因素对连续逆流提取出的浸膏具有显著影响, 确定连续逆流最佳提取工艺为 $A_1B_3C_3D_1$, 即料液比 1:16 (相当于每级为 1:4), 提取乙醇体积分数 60%, 提取时间 20 min, 提取温度 40 °C。

表 3 阿归养血颗粒连续逆流提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	浸膏量 /kg	阿魏酸 含量 /mg·g ⁻¹	综合 评分 /分
1	1	1	1	1	0.785	0.884	3.7
2	1	2	2	2	0.935	1.134	56.1
3	1	3	3	3	0.970	1.192	68.6
4	2	1	2	3	0.890	1.108	45.5
5	2	2	3	1	0.98	1.134	59.8
6	2	3	1	2	1.070	0.848	49.9
7	3	1	3	2	0.835	1.328	50.5
8	3	2	1	3	0.975	1.048	54.1
9	3	3	2	1	1.06	1.028	66.9
K_1	128.4	99.7	107.7	130.4			
K_2	155.2	170.0	116.0	156.5			
K_3	171.5	185.4	168.5	168.2			
R	43.1	85.7	60.8	37.8			

表 4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
B	1 391.425	2	45.214	<0.05
C	986.375	2	37.587	<0.05
A	249.660	2	3.915	
D(误差)	0.651	2	1.000	

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

2.2.3 提取工艺验证试验

称取处方量药材, 按优

选的提取工艺进行 3 次验证试验, 测得浸膏质量结果分别为 1.065, 1.055, 1.075 kg; 阿魏酸质量分数分别为 1.13, 1.124, 1.138 mg·g⁻¹。表明该提取工艺稳定可靠。

2.2.4 工艺比较

取适量粉碎成中粉的处方量混合药材 2 份, 用 60% 乙醇作溶剂, 分别采用连续逆流提取与渗漉提取, 减压回收乙醇, 真空干燥, 结果干浸膏质量分别为 1.065, 0.725 kg; 阿魏酸质量分数分别为 1.158, 0.780 mg·g⁻¹, 说明连续逆流提取工艺明显优于传统渗漉提取。

3 讨论

阿归养血方经多年临床验证, 具有显著疗效, 阿魏酸是方中君药当归和辅药川芎的主要活性物质。本研究首次将连续逆流提取技术运用至方中, 与传统渗漉工艺相比, 浸出速度快、效率高、耗能低。符合国家节能减排方针, 同时为该技术引入中药生产中提供依据。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 药品标准中药成分制剂. 第十二册[S]. 1986:79.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:124.
- [3] 张颖, 蒋俊春, 陈艳梅. HPLC 法测定阿归养血颗粒中阿魏酸的含量[J]. 中国药事, 2009, 12(1):130.
- [4] 林立萍, 贺英茵, 陈燕, 等. 阿归养血片质量标准的研究[J]. 中成药, 2007, 29(3):375.
- [5] 谢志鹏, 刘雪松, 陈勇, 等. 动态罐组式逆流提取技术在中药生产中的应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(10):884.
- [6] 韩丽, 谢秀琼, 杨明, 等. 丹参动态阶段连续逆流提取工艺研究[J]. 中成药, 2009, 31(5):721.

[责任编辑 全燕]