

## 紫癜灵颗粒提取工艺优选

赵昱玮<sup>1</sup>, 于森<sup>1\*</sup>, 何丽<sup>2</sup>, 何忠梅<sup>3</sup>, 袁媛<sup>4</sup>, 孙玉滨<sup>1</sup>

(1. 吉林天药药物研发有限公司, 长春 130012; 2. 吉林省梅河口市中心医院, 吉林 梅河口 135000;  
3. 吉林农业大学, 长春 130012; 4. 白求恩医科大学制药厂, 长春 130012)

**[摘要]** 目的: 优选中药紫癜灵颗粒的提取工艺。方法: 以黄芩苷和苦参碱作为评价指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验对影响提取工艺的主要因素进行优选, HPLC 测定黄芩苷和苦参碱含量。结果: 紫癜灵颗粒优选提取工艺为黄芩等 5 味药用 6 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h; 药渣及水牛角等余药加 10 倍量水煎煮 3 次, 每次 1.5 h。结论: 正交试验优选出的提取条件经济、合理, 适合批量生产。

**[关键词]** 紫癜灵颗粒; 提取工艺; 正交试验; 黄芩苷; 苦参碱

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0032-04

## Optimization of Extraction Process for Zidianling Granule

ZHAO Yu-wei<sup>1</sup>, YU Miao<sup>1\*</sup>, HE Li<sup>2</sup>, HE Zhong-mei<sup>3</sup>, YUAN Yuan<sup>4</sup>, SUN Yu-bin<sup>1</sup>

(1. Jilin Natural Pharmaceutical Research and Development Co. Ltd., Changchun 130012, China;  
2. Meihokou City Central Hospital, Meihokou 135000, China; 3. Jilin Agricultural University,  
Changchun 130012, China; 4. Pharmaceutical Factory of Bethune University  
of Medical Sciences, Changchun 130012, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Zidianling granule. **Method:** With baicalin and matrine as indicators, main factors of extraction process were optimized by  $L_9(3^4)$  orthogonal test, the content of baicalin and matrine were determined by HPLC. **Result:** Optimum extraction process was determined as follows: *Scutellaria baicalensis* and other five herbs was extracted 2 times with 6 times the amount of 70% ethanol, 1 hour each time; Residues of above mentioned drugs and the others herbs (*Bubalus bubalis* and the others herbs) were extracted 3 times with 10 times the amount of wate, 1.5 h each time. **Conclusion:** This optimized technology for Zidianling granules was economic, stable and suitable for mass production.

**[Key words]** Zidianling granule; extraction process; orthogonal test; baicalin; matrine

过敏性紫癜又称亨-舒综合征 (Henoch-Schonlein purpura, HSP), 是一种较常见的微血管变态反应性出血性疾病<sup>[1]</sup>。主要由感染、食物过敏、药物过敏、花粉、昆虫咬伤等引起, 但过敏原因难以确定。该疾病儿童及青少年较多见, 且男性较女性

多见, 近年发病率有逐年增高趋势。

中药紫癜灵颗粒是针对过敏性紫癜患者而研制的现代中药新药制剂, 该方由《备急千金要方》中犀角地黄汤化裁而来, 由水牛角、黄芩、生地黄、牡丹皮、苦参、紫草、丹参、赤芍等 11 味中药组成, 具有清热解毒、凉血止血的功效, 有良好的抗过敏和止血作用。

通过对处方中各药味的主要化学成分进行分析, 确定提取工艺路线为黄芩等 5 味药用乙醇回流提取; 药渣及水牛角、苦参等余药加水煎煮。试验采用正交试验对各工艺步骤进行优化, 确定中药紫癜灵颗粒最佳提取工艺。

### 1 材料

1100 VWD 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦),

**[收稿日期]** 20111202(007)

**[基金项目]** 吉林省中医药管理局中医药科技项目 (2010-  
pt088)

**[第一作者]** 赵昱玮, 助理研究员, 从事植物化学研究与新药开发, E-mail: yuwei5208@163.com

**[通讯作者]** \* 于森, 实习研究员, 从事植物化学研究与新药开发, E-mail: 4596miao@163.com

迪马 Diamonsil(钻石) $C_{18}$ 、依利特 Hypersil  $NH_2$  色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), BS2010S 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司), 黄芩苷、苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110715-201016, 110805-200508), 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

所用购于长春市药材公司, 经吉林天然药物研发有限公司孙玉滨研究员鉴定, 均符合《中国药典》2010 年版一部的相关规定。

## 2 方法与结果

**2.1 乙醇回流提取工艺** 根据预试验, 对黄芩等 5 味中药乙醇提取的主要影响因素(加醇量、乙醇体积分数、回流提取时间、提取次数)进行研究, 采用  $L_9(3^4)$  正交实验设计, 以黄芩苷含量为测定指标, 因素水平设计表见表 1。

表 1 黄芩等 5 味中药乙醇回流提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 加醇量/倍	C 提取数/次	D 提取时间/h
1	60	4	1	1
2	70	6	2	2
3	80	8	3	3

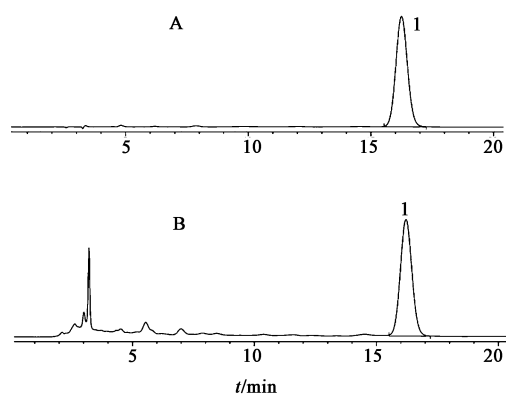
**2.1.1 色谱条件及系统适应性试验** Diamonsil(钻石) $C_{18}$  色谱柱, 流动相甲醇-0.2% 磷酸溶液(50:50), 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 280 nm, 进样量 10  $\mu$ L, 等梯度洗脱, 理论达板数按黄芩苷峰计算不低于 2 500。

**2.1.2 黄芩苷对照品溶液的制备** 精密称取经 60  $^{\circ}$ C 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 90 mg·L<sup>-1</sup> 的黄芩苷对照品溶液, 过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 即得。

**2.1.3 乙醇提取供试品溶液的制备** 按处方中黄芩等药材的配比, 准确称取 9 份样品, 每份 210 g, 按正交试验表进行试验, 提取液滤过, 合并, 回收溶剂, 浓缩成稠浸膏, 60  $^{\circ}$ C 减压干燥, 得干膏, 备用。

取正交干膏粉末 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 称定质量, 用 70% 乙醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻线, 摇匀, 过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 即得。见图 1。

**2.1.4 样品测定** 分别精密吸取 2.1.2 和 2.1.3 项下溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪测定其峰面积, 计算黄芩苷含量, 试验结果见表 2, 利用 Minitab 软件中田口设计模块方差分析结果见表 3。



A. 对照品; B. 样品; 1. 黄芩苷

图 1 黄芩等 5 味中药乙醇提取液 HPLC

表 2 黄芩等 5 味中药乙醇回流提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	黄芩苷/g
1	1	1	1	1	3.77
2	1	2	2	2	3.98
3	1	3	3	3	3.11
4	2	1	2	3	4.43
5	2	2	3	1	5.50
6	2	3	1	2	4.72
7	3	1	3	2	4.84
8	3	2	1	3	4.01
9	3	3	2	1	5.14
$K_1$	3.620	4.347	4.167	4.803	
$K_2$	4.883	4.497	4.517	4.513	
$K_3$	4.663	4.323	4.483	3.850	
R	1.263	0.174	0.350	0.953	

表 3 乙醇回流提取工艺正交试验方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2.733	2	1.366	51.48	<0.05
C	0.224	2	0.112	4.22	<0.05
D	1.433	2	0.716	26.99	<0.05
B(误差)	0.053	2	0.027	1.00	

注:  $F_{0.05(2,2)} = 19.00$ (表 6 同)。

由表 2 结果可知, B 因素对结果影响最小, 以其为误差列, 对其他因素进行方差分析, 结果发现 A, D 因素有显著的影响, 因此确定提取条件为  $A_2B_2C_2D_1$ , 即 6 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h。

**2.2 水提取工艺优选** 根据预试验结果, 确定影响水提取效果的因素主要有 3 个, 即加水倍数、煎煮次数、煎煮时间, 采用  $L_9(3^4)$  正交表安排试验, 以有效成分苦参碱含量为测定指标, 因素水平设计表见

表 4。

表 4 紫癜灵颗粒水提取工艺正交试验因素水平

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

**2.2.1 色谱条件及系统适应性试验** 依利特 Hypersil 色谱柱, 流动相乙腈-异丙醇-3% 磷酸溶液 (83:5:12), 流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长 220 nm, 进样量  $10 \mu\text{L}$ , 等梯度洗脱, 理论达板数按苦参碱峰计算应不低于 2 000。

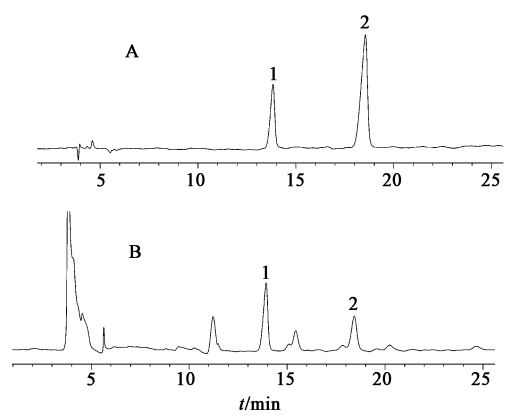
**2.2.2 苦参碱对照品溶液制备** 精密称取苦参碱对照品适量, 加流动相分别制成每 1 mL 含苦参碱  $70 \mu\text{g}$ 、氧化苦参碱  $0.20 \text{ mg}$  的对照品溶液, 过  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜, 即得。

**2.2.3 水提取供试品溶液制备** 按处方比例取水牛角、苦参等 6 味药材及乙醇提取后的药渣, 准确称取 9 份样品, 按表 5 进行试验, 提取液滤过, 合并, 浓缩成稠浸膏,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  减压干燥, 得干膏, 备用。

表 5 紫癜灵颗粒水提工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	苦参碱/g
1	1	1	1	1	0.31
2	1	2	2	2	1.15
3	1	3	3	3	1.27
4	2	1	2	3	0.58
5	2	2	3	1	1.07
6	2	3	1	2	1.58
7	3	1	3	2	0.72
8	3	2	1	3	1.44
9	3	3	2	1	1.78
$K_1$	0.911	0.537	1.110	1.051	
$K_2$	1.073	1.217	1.168	1.150	
$K_3$	1.310	1.540	1.016	1.093	
R	0.399	1.003	0.152	0.099	

取正交干膏粉末  $0.3 \text{ g}$ , 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加氨试液  $0.5 \text{ mL}$ , 精密加入三氯甲烷  $25 \text{ mL}$ , 称定质量, 超声处理  $30 \text{ min}$ , 放冷, 称定质量, 三氯甲烷补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液  $5 \text{ mL}$ , 加在中性氧化铝柱 ( $100 \sim 200$  目,  $5 \text{ g}$ , 内径  $1 \text{ cm}$ ) 上, 依次用三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇 (7:3) 混合溶液各  $25 \text{ mL}$  洗脱, 合并洗脱液, 回收溶剂至干, 残渣置  $10 \text{ mL}$  量瓶中, 加无水乙醇溶解并稀释至刻线, 摇匀, 过  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜, 即得样品溶液。见图 2。



A. 对照品; B. 样品; 1. 苦参碱; 2. 氧化苦参碱

图 2 紫癜灵颗粒水提液 HPLC

**2.2.4 样品测定** 分别精密吸取 2.2.2 和 2.2.3 项下溶液各  $10 \mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪测定其峰面积, 计算苦参碱含量。试验结果见表 5, 利用 Minitab 软件中田口设计模块方差分析结果见表 6。

表 6 水提取方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.242	2	0.121	16.54	>0.05
B	1.574	2	0.787	107.52	<0.01
C	0.035	2	0.017	2.36	>0.05
D(误差)	0.015	2	0.007		

由表 6 结果可知, B 因素有极显著的影响, 结合直观分析, 确定水提取工艺条件  $A_3B_3C_2$ , 即加 10 倍量水煎煮 3 次, 每次  $1.5 \text{ h}$ 。

**2.3 验证试验** 为验证正交试验优选的提取条件, 按上述醇提和水提取工艺条件安排 3 批试验, 醇提黄芩苷量分别为  $5.48, 5.50, 5.32 \text{ g}$ ; 水提苦参碱量分别为  $1.70, 1.69, 1.70 \text{ g}$ 。结果表明试验优选工艺合理, 稳定, 具有良好的重现性和可操作性。

### 3 讨论

醇提正交工艺样品中黄芩苷含量测定方法分别比较了乙腈-1% 醋酸 (26:74)<sup>[2]</sup>、甲醇-水-乙腈 (47:53:0.5)<sup>[3]</sup> 等多种流动相, 结果显示采用甲醇-0.2% 磷酸溶液 (50:50) 时分离效果最好。水提正交工艺样品中苦参碱含量测定方法分别考察了《中国药典》2010 年版一部苦参<sup>[4]</sup> 药材含量测定的液相条件及乙腈-0.1% 磷酸溶液 (三乙胺调 pH 7.0) (20:80)<sup>[5]</sup>, 结果分离效果不好且峰形不对称, 后改用乙腈-异丙醇-3% 磷酸溶液<sup>[6]</sup> 分别以不同比例测定, 确定乙腈-异丙醇-3% 磷酸溶液 (83:5:12) 时能较好的将苦参碱分离。本试验以黄芩苷和苦参碱含量为指标, 通过正交试验法优选提取工艺, 确定操作简便且

# 多指标正交试验优选麻黄附子细辛汤提取工艺

秦超, 容蓉\*, 杨勇, 吕青涛, 蒋海强  
(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

**[摘要]** 目的: 优选麻黄附子细辛汤提取工艺。方法: 采用 HPLC 测定指标成分含量, 以麻黄碱、伪麻黄碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头碱、苯甲酰次乌头碱和干浸膏得率为检测指标, 采用  $L_9(3)^4$  正交试验考察提取时间、提取次数和溶剂用量对提取工艺的影响。结果: 麻黄附子细辛汤最佳提取工艺为 16 倍量 pH 2.0 盐酸提取 2 次, 每次 2.5 h。结论: 多指标综合评定优化提取工艺更符合中医用药的整体观, 优化的提取工艺方法合理可行, 稳定可靠, 具可操作性和重复性。

**[关键词]** 麻黄附子细辛汤; 正交试验; 提取工艺; 多指标

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0035-05

## Optimization of Extraction Technology for Mahuang Fuzi Xixin Decoction by Multi-index Orthogonal Test

QIN Chao, RONG Rong\*, YANG Yong, LV Qing-tao, JIANG Hai-qiang

(College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Mahuang Fuzi Xixin decoction. **Method:** With ephedrine, pseudoephedrine, benzoyl aconine, benzoyl mesaconitine, benzoyl hypaconitine and yield of extract as indexes, the content of these were determined by HPLC, effect of extraction time, extraction times and the amount of solvents on extraction technology was investigated by  $L_9(3)^4$  orthogonal test. **Result:** Optimum extraction conditions were: extracted 2 times with 16 times the amount of hydrochloric acid (pH 2.0) with 2.5 hours each time. **Conclusion:** It was more suitable for integral view of Chinese medicine by multi-index comprehensive evaluation method, this optimized extraction technology was reasonable, feasible, stable, reliable, operable and good reproducibility.

**[Key words]** Mahuang Fuzi Xixin decoction; orthogonal test; extraction technology; multi-index

麻黄附子细辛汤出自张仲景《伤寒论》, 由麻黄、附子、细辛 3 味药组成, 为温经散寒之圣剂<sup>[1]</sup>。

**[收稿日期]** 20111016(001)

**[基金项目]** 山东省高等学校科技计划项目(J10LF20)

**[第一作者]** 秦超, 硕士, 从事药物化学研究, Tel: 15863172040, E-mail: qinchaolo@126.com

**[通讯作者]** \* 容蓉, 博士, 教授, 从事中药复方活性成分与质量控制研究, Tel: 0531-89628593, E-mail: r.rong@sduetcm.edu.cn

稳定合理的提取工艺, 为中药紫癜灵颗粒的进一步研究提供科学参考依据。

### [参考文献]

- [1] 栗洪波, 荣大奇. 中医药治疗过敏性紫癜的研究进展[J]. 长春中医学院学报, 2004, 20(1): 53.
- [2] 龙艳华. 黄菊颗粒中黄芩的有效成份黄芩苷的含量测定[J]. 中国药师, 2006, 9(7): 646.
- [3] 蓝鸣生, 邓日建, 蒋莉. 高效液相色谱法测定复方百

部止咳冲剂中的黄芩苷含量[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(6): 958.

- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010: 188.
- [5] 田吉, 何兵, 杨曦. 舒肤软膏中苦参碱的含量测定[J]. 泸州医学院学报, 2009, 32(5): 484.
- [6] 李越. 高效液相色谱法测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量[C]. 运城: 全国中药创新与研究论坛论文集, 2009: 337.

[责任编辑 仝燕]