

暑热宁合剂提取工艺优化

张元元¹, 李进^{2*}, 陈涛², 李凤丽²

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193)

[摘要] 目的: 优选暑热宁合剂提取工艺。方法: 以葛根素及绿原酸为考察指标, HPLC 测定指标成分含量。选取提取次数、提取时间和加水量等为考察因素, 采用正交试验法对进行提取工艺优选。结果: 暑热宁合剂最佳提取条件为加 10 倍量水提取 3 次, 每次 1.5 h。结论: 优选的工艺稳定、可行、重复性好。

[关键词] 暑热宁合剂; 葛根素; 绿原酸; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0049-03

Optimization of Extraction Process for Shurenning Mixture

ZHANG Yuan-yuan¹, LI Jin^{2*}, CHEN Tao², LI Feng-li²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of Shurenning mixture. **Method:** Taking puerarin and chlorogenic acid as indexes, the content of index components were determined by HPLC. Orthogonal

[收稿日期] 20120220(005)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09102-201)。

[第一作者] 张元元, 硕士, 从事药物分析与质量控制的研究, Tel:15222892682, E-mail:270856189@qq.com

[通讯作者] * 李进, 教授, 硕士生导师, 从事药物分析与质量控制的研究, E-mail:lijin@shitian.com

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	3.864	1	3.864	0.269	>0.05
B	2.622	1	2.622	0.183	>0.05
C	0.231	1	0.231	0.016	>0.05
D	10.442	1	10.442	0.727	>0.05
E	290.405	1	290.405	20.216	>0.05
F	5.746	1	5.746	0.400	>0.05
G(误差)	14.365	1	14.365		

注: $F_{0.05}(1, 1) = 161.00$ 。

正活脉浓缩丸, 依据《中国药典》2005 年版第一部规定^[5], 对样品外观、水分、丸重差异、溶散时限进行检测, 结果各项指标均符合规定, 表明工艺可行。

3 讨论

本研究采用泛制法制丸, 由部分药材提取、部分药材细分加粘合剂而成, 运用正交设计和多指标综合评分法对水分与外观进行评分, 优选颐正活脉丸

的打光工艺。为浓缩丸的质量提高提供保证, 同时可改善多年来打光工艺只能靠经验控制、质量不稳定的现象。

[参考文献]

- [1] 朱志军, 孟林, 张毅远, 等. 颐正活脉丸的降脂功能实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 8(17):1696.
- [2] 朱志军, 张毅远. 颐正活脉丸对 HRS 诱导人脐血管内皮细胞损伤的影响[J]. 中华中医药学刊, 2010, 10(28):2108.
- [3] 贾白玲, 史欣德. 我国部颁标准与新药在各科相关病种的分布报告 I [J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(6):62.
- [4] 朱志军, 李民, 张太行, 等. 正交试验法优选颐正活脉丸提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 12(17):39.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2005:附录 X.

[责任编辑 仝燕]

experiment was applied to optimize extraction technology with extraction times, extraction time and the amount of water as factors. **Result:** The best extraction conditions were as follows: extracted 3 times with 10-fold the amount of water, 1.5 h each time. **Conclusion:** optimized process was stable and feasible with good repeatability.

[**Key words**] Shurening mixture; puerarin; chlorogenic acid; orthogonal test; extraction process

暑热宁合剂为本院儿科课题组于 20 世纪 90 年代自主研发的院内制剂,由广藿香、葛根、金银花、香薷、厚朴等 13 味药提取制备而成,具有清暑泄热、利湿化浊之功效,主要用于小儿暑热外感,发热恶寒,肢酸咽肿等症。研究资料表明,方中葛根、金银花、黄芩、黄连等药味的有效成分均具有较好的水溶性^[14],本方临床应用时多以水煎剂服用。故本试验采用水作为提取溶剂,以葛根素、绿原酸含量为考察指标,对提取次数、提取时间和加水量等因素进行正交试验优选。

1 材料

2998 系列高效液相色谱仪(600E 泵,Empower 工作站,美国 Waters),JA2003 型电子分析天平(上海精科天平厂),绿原酸、葛根素对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110753-200413,110752-200912)。

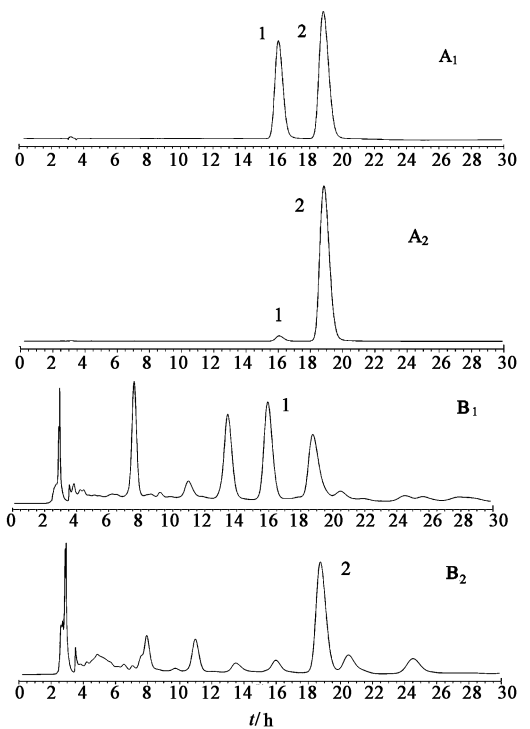
金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera Japonica* Thunb. 的干燥花蕾及初开的花(山东平邑县,批号 10060),葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根(安徽亳州药材公司,批号 051016),其余药材均购于河北省中药材有限公司饮片厂,经本院陈涛教授鉴定符合要求。乙腈为色谱纯,水为自制重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取葛根素、绿原酸对照品适量,加 30% 乙醇制成 $0.565 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 葛根素和 $62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 绿原酸的混合对照品溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备 称取 1/4 处方量药材,共 440 g,加 12 倍量水煎煮 3 次,每次 2 h。滤过,药液浓缩至 445 mL。精密量取 10 mL 置 25 mL 量瓶中,加甲醇适量,振摇,用甲醇稀释至刻度,摇匀。放置,用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

2.3 色谱条件 Xterra @ RP 色谱柱($185 \mu\text{m}$),流动相乙腈-0.4% 磷酸溶液(10:90),流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,葛根素及绿原酸检测波长分别为 250,327 nm,柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$,进样量 $20 \mu\text{L}$,理论塔板数按葛根素计不低于 4 000,按绿原酸计不低于 1 000。见图 1。



A. 对照品(A₁ 327 nm;A₂ 250 nm);

B. 样品;(B₁ 327 nm, B₂ 250 nm);

1. 绿原酸;2. 葛根素

图 1 暑热宁合剂 HPLC

2.4 单因素试验

2.4.1 加水量考察 取 1/4 处方量药材 5 份,分别加 6,8,10,12,15 倍量水回流提取 1 次,共 2 h,按以上色谱条件测定葛根素含量,结果分别为 0.400,0.451,0.605,0.632,0.635 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由结果可知,加 10 倍量水提取效果最佳。

2.4.2 提取时间考察 取 1/4 处方量药材 5 份,各加 10 倍量水提取 1 次,提取时间分别为 1,1.5,2,2.5,3 h,按以上色谱条件测定葛根素含量,结果分别为 0.500,0.635,0.645,0.653,0.54 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由结果可知,提取 1.5 h 为拐点,故提取时间的水平定 1,1.5,2.0 h。

2.5 正交试验设计 称取 1/4 处方量药材,在单因素试验基础上,选取加水量、提取时间、提取次数为考察因素,每个因素选择 3 个水平,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行水提工艺优选。因素水平表见表 1,试验结果见表 2,方差分析见表 3,4。

表1 暑热宁合剂提取工艺正交试验因素水平

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

表2 暑热宁合剂提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	葛根素 /g·L ⁻¹	绿原酸 /g·L ⁻¹
1	1	1	1	1	0.335	0.582
2	1	2	2	2	0.691	0.360
3	1	3	3	3	0.754	0.266
4	2	1	2	3	0.718	0.533
5	2	2	3	1	0.949	0.510
6	2	3	1	2	0.456	0.341
7	3	1	3	2	0.688	0.381
8	3	2	1	3	0.443	0.510
9	3	3	2	1	0.816	0.369
葛根素	K ₁	0.593	0.580	0.411	0.700	
	K ₂	0.708	0.694	0.742	0.612	
	K ₃	0.649	0.675	0.797	0.638	
	R	0.115	0.114	0.386	0.088	
绿原酸	K ₁	0.403	0.499	0.478	0.487	
	K ₂	0.461	0.460	0.421	0.361	
	K ₃	0.420	0.325	0.386	0.436	
	R	0.058	0.174	0.092	0.126	

表3 葛根素含量方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.020	2	1.667	>0.05
B	0.022	2	1.833	>0.05
C	0.261	2	21.750	<0.05
D(误差)	0.012	2	1.000	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ (表4同)。

由表2结果可知,对葛根素含量进行直观分析,影响因素顺序为 $C > A > B$,即提取次数影响最大;由表3结果可知,以极差最小的D因素为误差项进行方差估算,只有C因素有显著性差异。对绿原酸含量进行直观分析可知,影响因素顺序为 $B > C > A$,即提取时间影响最大;由表4结果可知,以极差最

表4 绿原酸含量方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.005	2	0.208	>0.05
B	0.050	2	2.083	>0.05
C	0.013	2	0.542	>0.05
D(误差)	0.024	2	1.000	

小的D因素为误差项进行方差估算,各因素均无显著性影响。因为葛根为处方中臣药,首先考虑影响葛根素提取的因素,次要考虑影响绿原酸的因素,故选取最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3$,即加10倍量水提取3次,每次1.5h。

2.6 验证试验 称取1/4处方量药材3份,按优选工艺进行3次验证试验。结果葛根素质量浓度分别为0.968,0.951,0.972 g·L⁻¹;绿原酸质量浓度分别为0.511,0.514,0.508 g·L⁻¹。表明该工艺重复性好,稳定可行。

3 讨论

本试验采用不同质量分数甲醇^[5]、乙醇^[6],超声和直接定容等多种方法对暑热宁供试品溶液进行前处理试验研究。根据研究结果及实际操作,最终选取甲醇为提取溶剂。

本试验确定的提取工艺综合考虑了葛根素、绿原酸2个有效成分的含量,在同一洗脱剂不同吸收波长下进行2种成分的含量测定,方法简便可行,重复性好。可进一步提高暑热宁合剂的质量标准,确保该方疗效。

[参考文献]

- [1] 董英,徐斌,林琳,等.葛根的化学成分研究[J].食品与机械,2005,21(6):85.
- [2] 张小光.金银花水溶性化学成分研究[D].咸阳:陕西中医学院,2007.
- [3] 徐玉田.黄芩的化学成分及现代药理作用研究进展[J].光明中医,2010,25(3):544.
- [4] 李峰.黄连的化学成分及质量标准的研究[D].成都:四川大学,2007.
- [5] 陈丽红,唐于平,王强.葛根芩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.
- [6] 郭炎荣.葛根素滴眼液的HPLC法测定[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(1):16.

[责任编辑 仝燕]