

# 正交设计法优选复方昆丹胶囊的提取工艺

朱莹<sup>1,2</sup>, 陈婷<sup>1,2</sup>, 赵瑞芝<sup>1,2</sup>, 阳宇<sup>1</sup>, 许平<sup>3</sup>, 王智园<sup>1</sup>, 黄海定<sup>1</sup>, 郑广娟<sup>1,2\*</sup>

(1. 广东省中医院, 广州 510006; 2. 广州中医药大学, 广州 510006;  
3. 广东省心血管病研究所, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 建立高效液相色谱同时测定复方昆丹胶囊中多种成分含量的方法, 采用正交设计法优选复方昆丹胶囊中有效成分的提取工艺。方法: 以5,7-二甲氧基香豆素, 白术内酯 I 和白术内酯 III 为指标, 采用正交试验, 考察提取次数, 提取时间, 乙醇体积分数及用量等因素的影响, 优化提取条件。结果: 最佳提取工艺条件为8倍量75%乙醇提取3次, 每次0.5 h。结论: 优选的提取工艺多种有效成分的提取率均较高, 适用于生产。

**[关键词]** 昆丹胶囊; 5,7-二甲氧基香豆素; 白术内酯 I; 白术内酯 III; 正交试验; 提取工艺

**[中图分类号]** R283 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0066-04

## Extraction Process Optimization of Kundan Capsules by Orthogonal Design

ZHU Ying<sup>1</sup>, CHEN Ting<sup>1,2</sup>, ZHAO Rui-zhi<sup>1,2</sup>, YANG Yu<sup>1</sup>, XU Ping<sup>3</sup>,  
WANG Zhi-yuan<sup>1</sup>, HUANG Hai-ding<sup>1</sup>, ZHENG Guang-juan<sup>1,2\*</sup>

(1. Guangdong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;  
2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;  
3. Guangdong Cardiovascular Institute, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** Optimizing the extract process for Kundan capsule. **Method:** The content of 5, 7-Dimethoxycoumarin, butenolide I and butenolide III in the extract was the index, and the concentration was determined by HPLC. The concentration of number of times, extract time, alcohol, and extraction solvent were considered. The orthogonal test was used for optimization. **Result:** The optimum extract process was: 8 times as much 75% alcohol extracted 0.5 h, the extract number of times were three times. **Conclusion:** The optimum process provides a high yield for both three components, and easy to carry out.

**[Key words]** Kundan capsule; 5, 7-dimethoxycoumarin; butenolide I; butenolide III; orthogonal test; extract process

昆丹胶囊组方有佛手、白术等, 是针对代谢综合征的发病机制, 在中医理论指导下, 以益气活血、消湿化痰、健脾补肾为治则, 自主研发的一种具有降糖、降脂、降压、纠正代谢紊乱等多重功效的中药新药。佛手乙醇提取物能扩张动物冠状动脉<sup>[1-2]</sup>, 其

主要成分5,7-二甲氧基香豆素具有降血脂的作用; 白术中的双酯成分具有降血糖的作用<sup>[3]</sup>。本文在前期动物实验药效筛选基础上, 根据文献并结合中医药治疗代谢综合征机制研究, 选择了以5,7-二甲氧基香豆素, 白术内酯 I 和白术内酯 III 这3种成分为指标进行提取工艺的筛选, 为本制剂的规范化加工提供技术参数。

### 1 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱仪, Waters2998PDA 检测器, METTLER AB135-S 型 1/10 万电子分析天平(瑞士 METTLER 公司)。

5,7-二甲氧基香豆素( sigma 公司, 批号 05398PJ, 纯度 98%), 白术内酯 III(宽林科技有限公

**[收稿日期]** 2011-08-11

**[基金项目]** 广东省科技厅重大项目(2009B080701024)

**[第一作者]** 朱莹, 助理研究员, 医学博士, 从事中西医结合心脑血管疾病的临床及基础研究, E-mail: debora\_407@163.com, Tel: 020-39318470

**[通讯作者]** \* 郑广娟, 博士生导师, 教授, 从事中西医结合治疗心脑血管疾病和肿瘤转移的研究, E-mail: zhengguangjuan@163.com

司,批号 KL100813,纯度 98%),白术内酯 I(宽林科技有限公司,批号 KL100811,纯度 98%),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯,昆丹胶囊由本实验室自制。

## 2 方法与结果

**2.1 正交试验设计** 提取次数、提取时间、乙醇体积分数及其用量是影响成分煎出效率的主要因素,每个因素选择 3 个水平安排正交试验,见表 1。

表 1 乙醇提取工艺正交试验因素水平

水平	A	B	C	D
	提取数 /次	提取时间 /h	乙醇体积分数 /%	乙醇用量 /倍
1	1	0.5	35	8
2	2	1.0	55	10
3	3	1.5	75	12

各指标综合评分的权重系数根据其与本方功能主治相关性大小来确定,分别为 5,7-二甲氧基香豆素 40%,白术内酯 III 为 30%,白术内酯 I 30%。

**2.2 药物的提取及供试液的制备** 按表 1 安排实验。所有实验组药材均浸泡 1.0 h,溶剂加入量为药材质量的 10 倍,回流提取,过滤,减压浓缩至干;残渣用甲醇溶解,滤过,甲醇定容至 100 mL,即得  $1.14 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的药液,作为样品液备用。精密量取 1 mL,水浴蒸干,二氯甲烷萃取 3 次,合并二氯甲烷液,蒸干,甲醇定容至 10 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,过  $0.45 \mu\text{m}$  的微孔滤膜,得供试品溶液。

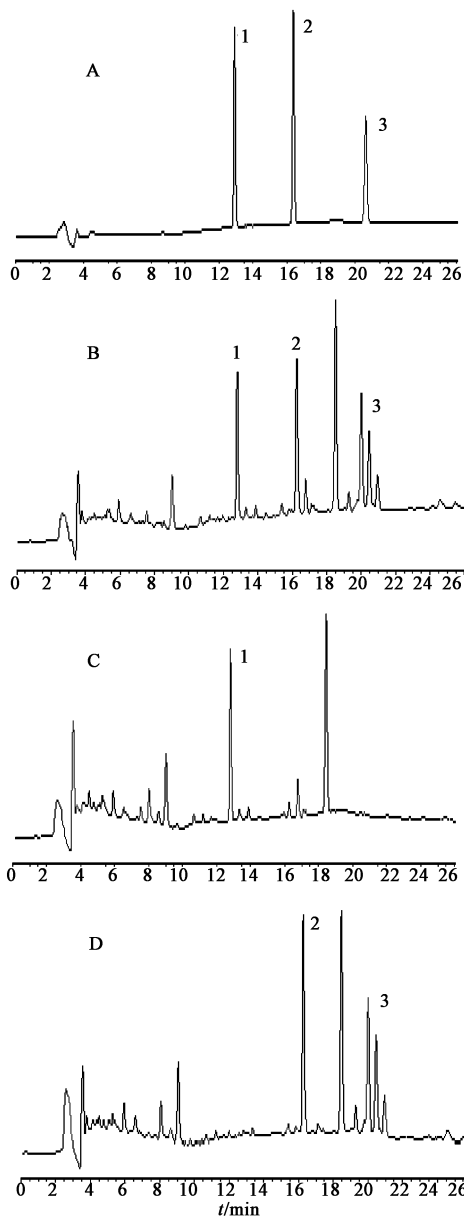
**2.3 混合对照品溶液的制备** 取 5,7-二甲氧基香豆素,白术内酯 I 和白术内酯 III 对照品适量,分别精密称定,甲醇定容至 100 mL 量瓶中,作为对照品储备液,得质量浓度依次为  $33.6, 46.1, 26.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的混合对照品溶液。

**2.4 阴性样品溶液的制备** 按处方量称取除白术,佛手的其他药材进行提取,按 2.2 项下制备阴性样品溶液。

### 2.5 含量测定

**2.5.1 色谱条件** Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈(A)-水(B)为流动相,进行梯度洗脱(0~6 min, 35%~40% A, 6~10 min, 40%~55% A, 10~15 min, 55%~65% A, 15~26 min, 65%~66% A),流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,进样量 10 μL,柱温 30 °C,检测波长 220 nm。在此色谱条件下,各成分的色谱峰与相邻峰分离度均 >1.5。见图 1。

**2.5.2 线性关系的考察** 分别取混合对照品分别稀释 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 倍后摇匀,过  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜,制成系列对照品溶液。照上述



A. 对照品; B. 样品; C. 缺白术阴性样品; D. 缺佛手阴性样品; 1. 5,7-二甲氧基香豆素; 2. 白术内酯 III; 3. 白术内酯 I

图 1 复方昆丹胶囊 HPLC

条件进样。以对照品进样量( $X, \mu\text{g}$ )对峰面积( $Y$ )进行线性回归,5,7-二甲氧基香豆素、白术内酯 I 和白术内酯 III 回归方程依次为  $Y = 3\,890\,000X + 5\,150 (r = 0.999\,9)$ ;  $Y = 3\,190\,000X - 4\,990 (r = 0.999\,9)$ ;  $Y = 4\,650\,000X + 4\,130 (r = 0.999\,9)$ ; 线性范围分别在  $0.07 \sim 16.8, 0.09 \sim 23.1, 0.05 \sim 13.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.5.3 测定法** 分别精密吸取混合对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪中,测定峰面积,计算各成分含量。

**2.6 正交试验结果** 见表 2。

表 2 乙醇提取正交试验

No.	A	B	C	D	质量分数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$			综合评分
					5,7-二甲氧基香豆素	白术内酯Ⅲ	白术内酯Ⅰ	
1	1	1	1	1	0.183 3	0.079 2	0.004 2	13.41
2	1	2	2	2	0.338 9	0.195 8	0.033 3	32.11
3	1	3	3	3	0.277 8	0.304 2	0.033 3	33.57
4	2	1	2	3	0.481 1	0.335 7	0.045 8	50.41
5	2	2	3	1	0.472 2	0.435 7	0.070 8	56.66
6	2	3	1	2	0.316 7	0.266 7	0.020 8	31.39
7	3	1	3	2	0.600 0	0.716 7	0.145 8	90.21
8	3	2	1	3	0.561 1	0.241 7	0.033 3	45.22
9	3	3	2	1	0.794 4	0.495 8	0.133 3	88.18
$K_1$	0.172	0.311	0.226	0.315				
$K_2$	0.297	0.284	0.381	0.305				
$K_3$	0.437	0.311	0.399	0.285				
R	0.265	0.027	0.173	0.030				

注:综合评分 = (5,7-二甲氧基香豆素含量/最大 5,7-二甲氧基香豆素含量)  $\times 100 \times 0.4$  + (白术内酯Ⅲ含量/最大白术内酯Ⅲ含量)  $\times 100 \times 0.3$  + (白术内酯Ⅰ含量/最大白术内酯Ⅰ含量)  $\times 100 \times 0.3$ 。

表 3 乙醇提取综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	3 517.928	2	1 758.964	41.166	<0.05
B(误差)	85.457	2	42.729		
C	1 642.212	2	821.106	19.217	<0.05
D	102.806	2	81.403	1.905	>0.05

由上表可以看出,各影响因素顺序为  $A > C > D > B$ ,正交试验显示最佳工艺为  $A_3 B_1 C_3 D_1$ 。以极差最小的 B 因素为误差项进行方差分析,A,C 因素有显著性影响,D 因素无显著性差异,因此确定最佳的工艺为  $A_3 B_1 C_3 D_1$ (数据处理采用 SPSS17.0 统计软件)。

**2.7 验证试验** 为进一步验证优选方法的可靠性,取 3 份药材,每份 114 g,按上述结果分析中的各条件下提取,测定供试品溶液中 5,7-二甲氧基香豆素,白术内酯Ⅰ和白术内酯Ⅲ的质量分数。结果分别为  $(0.111 \pm 0.05)$ ,  $(0.085 \pm 0.02)$ ,  $(0.024 \pm 0.01) \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。验证样品中各指标与正交试验优选结果相近,说明优选的工艺条件简单、稳定、可行。

### 3 讨论

中医学认为代谢综合征是由于先天禀赋不足,饮食不节,情志所伤,年老肾虚所致,痰瘀交阻是本病病机的关键,痰浊可阻滞气机,导致血瘀形成,瘀

血亦可以使津液代谢异常,导致痰浊的产生。痰瘀互阻可导致代谢综合征,从而临床表现出高血压病、糖尿病、肥胖、冠心病等疾患。佛手清香味浓,辛开苦降,既能疏肝行气,又能燥湿化痰,白术为健脾之要药,能够强壮脾胃,脾胃健则运化强,二者配伍以健脾益气,燥湿化痰,适用于代谢综合征之治疗。

现代药理研究证明,白术具有抗凝血、血管扩张的作用<sup>[4]</sup>和降血糖的作用<sup>[5]</sup>,佛手具有抗心肌缺血、降血压的作用<sup>[6]</sup>,5,7-二甲氧基香豆素、白术内酯Ⅰ和白术内酯Ⅲ都与治疗作用相关,但各自所作用的环节并非完全一样,本实验根据佛手和白术的药理作用采用权重比例 5,7-二甲氧基香豆素:白术内酯Ⅰ:白术内酯Ⅲ = 0.4:0.3:0.3,以此计算综合评分确定的最佳工艺与临床更为贴切。

本试验采用正交优化法得出了昆丹胶囊处方药材的乙醇回流工艺,结合代谢综合征发病机制,确定了多成分指标进行提取工艺筛选的方法,更符合中医药理论,为工业生产及复方昆丹胶囊的下一步研制提供理论依据。

### [参考文献]

[1] 中华医学会糖尿病分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病分会关于代谢综合征的建议[J]. 中华糖尿病杂志,2004,12(3):156.  
[2] 江苏新医学院,中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社,1997:1141.

# 田基黄色素的提取及其稳定性

王海涛, 彭金龙, 张斌, 张璐\*

(南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

**[摘要]** 目的: 探讨不同溶剂提取田基黄色素的方法, 并考察各种因素对色素稳定性的影响。方法: 采用 6 种不同溶剂提取色素, 测试 pH、温度、光照、还原剂及氧化剂等因素对色素稳定性的影响。结果: 田基黄色素用 95% 乙醇 30 ℃ 超声提取 10 min 效果最佳, 该色素在光照、强酸碱性、 $Mg^{2+}$ 、 $Al^{3+}$  等条件下不稳定, 食品添加剂、还原剂、氧化剂对色素的稳定性影响不大。结论: 该色素具有较好稳定性, 但须防止光照, 避免酸碱性条件下使用。田基黄色素可作为一种较好的天然植物色素资源。

**[关键词]** 田基黄; 色素; 提取条件; 稳定性

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0069-03

## Extraction and Stability of Pigment from *Hypericum japonicum*

WANG Hai-tao, PENG Jin-long, ZHANG Bin, ZHANG Lu\*

(College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate extraction methods of pigment from *Hypericum japonicum* by different solvents, and investigate effects of different factors on stability of pigment. **Method:** Pigment was extracted with 6 different solvents, stability of pigment was tested with pH, temperature, light, reducing agents and oxidants. **Result:** Extraction effect of pigment was optimum by ultrasonic extraction 10 min with 95% ethanol at 30 ℃. These pigment was unstable in light, strong acidity and alkaline, metal ions of  $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$  and other conditions. Food additives, reducing agents and oxidants had little effect on stability of pigment. **Conclusion:** These pigment had good stability, but it must prevent pigment using in light and avoid acidity and alkaline condition. Pigment from *H. japonicum* could be used as a good resource of natural plant pigment.

**[Key words]** *Hypericum japonicum*; pigment; extraction condition; stability

田基黄药材收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药材第一册<sup>[1]</sup>, 具有利湿退黄、清热

解毒、活血消肿、跌打损伤等功效。据相关报道表明田基黄含有大量黄酮类成分<sup>[2,3]</sup>, 其中黄酮类色素作为一种天然色素, 具有抗氧化、抗突变性、类雌激素等作用<sup>[4]</sup>, 在食品、化妆、医药方面运用较多。目前对田基黄色素的研究尚无报道, 本试验对其提取工艺进行考察, 并对其稳定性进行初步探讨, 以期和田基黄色素的推广应用提供试验依据。

**[收稿日期]** 20111205(006)

**[第一作者]** 王海涛, 在读本科, 从事中药制剂研究, Tel: 15521105812, E-mail: 1806304794@qq.com

**[通讯作者]** \*张璐, 本科, 从事中药制剂工艺研究与质量标准控制, Tel: 020-61648263, E-mail: ulgnahz@163.com

[3] 冉先穗. 中华药海[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1998: 158.

[4] 杨顺强. 白术的药理与临床应用[J]. 广东药学, 1999, 9(3): 22.

[5] 单俊杰, 田庚元. 白术糖复合物 AMP-B 的理化性质及降血糖活性的研究[J]. 药学报, 2003, 38(6): 438.

[6] Yamamoto M S, Suzuki F D, Joku ra B S, et al. Glucosyl hesperidin prevents endothelial dysfunction and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats [J]. Nutrition, 2008(24): 470.

[责任编辑 全燕]