

# 均匀设计法优选坤安颗粒提取工艺

杨水清\*

(深圳市中医院,广东深圳 518000)

**[摘要]** 目的:优化坤安颗粒的提取工艺。方法:采用均匀设计法安排试验,以加水倍量、提取时间和提取次数为主要考察因素,以芍药苷提取率及出膏率为考察指标,多指标综合评分法优化水提取工艺;以加醇体积分数、提取次数、加液倍量和提取时间为主要考察因素,以总黄酮提取量及出膏率为考察指标,多指标综合评分法优化醇提取工艺。结果:确定水提取条件为每次加 12 倍水,提取 2 次,每次 1.5 h;醇提条件为加入 9.6 倍量 30% 乙醇,提取 3 次,每次提取 2 h。结论:该提取工艺合理、稳定、可行。

**[关键词]** 坤安颗粒;均匀设计;芍药苷;总黄酮;提取工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0029-03

## Optimal Extraction Technology of Kun'an Granules by Uniform Design

YANG Shui-qing\*

(Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction process of Kun'an granules. **Method:** Arranged experiments with uniform design method, investigated main factors of solvent dosage, extracting time and extracting times, extract percentage and extraction rate of paeoniflorin were as index, multi-index comprehensive score was used to optimum water extraction process; investigated main factors of ethanol concentration, extracting times, ethanol volume and extracting time, extract percentage and extraction rate of total flavonoids were as index, multi-index comprehensive score was used to optimum water extraction process. **Result:** Optimum water extraction conditions were: extracted 2 times with 12 times the amount of water for 1.5 h each time; optimum ethanol extraction conditions were: added 9.6 times the amount of 30% ethanol, extracted 3 times for 2 h each time. **Conclusion:** The optimized extraction process was reasonable, stable and feasible.

**[Key words]** Kun'an granules; uniform design; paeoniflorin; total flavonoids; extraction process

坤安汤为我院临床经验方剂,由赤芍、柴胡、川断、香附、败酱草、蒲黄、篇蓄、淫羊藿等药物组成,具有活血通经、化瘀止痛等功效,主要用于瘀血阻滞引起的月经不调、少腹胀痛、经血量少、小腹疼痛拒按以及癥瘕结块等,临床应用多年,具有良好的临床疗效。为了提高临床用药质量和方便患者用药,现将其制成医院制剂——坤安颗粒。根据处方中各味药材的有效成分性质和临床的常用方法,其中赤芍、柴

胡、川续断、香附、败酱草等含苷类、皂苷、有机酸等水溶性成分较多,篇蓄、淫羊藿的主要成分以黄酮类成分等为主,因此拟定采用水和稀醇分别提取,本文采用均匀设计法对其提取工艺进行优选,从而为坤安颗粒的制备提供依据。

### 1 材料

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent),UV-2500 型紫外分光光度计(日本岛津),JJ300 型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂),DHG 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

芍药苷、芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110736-200526,100080-200306)。

**[收稿日期]** 20110730(005)

**[通讯作者]** \*杨水清,硕士,副主任中药师, Tel: 0755-83001884, E-mail: gaohigh@tom.com

乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 评价指标的选择

**2.1.1 出膏率的测定** 精密吸取各样品浓缩液 10 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,照干燥失重法(《中国药典》2005 年版一部附录 IX G)测定,计算出膏率。

**2.1.2 芍药苷含量测定<sup>[1]</sup>** 对照品溶液的制备 精密称取置五氧化二磷真空干燥器干燥 36 h 的芍药苷对照品 4.2 mg,置于 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得芍药苷质量浓度 42 mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**色谱条件与系统适用性试验** Agilent Elipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相 0.1% 磷酸-乙腈(14:86),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温常温,检测波长 230 nm。结果表明芍药苷在 0.021 ~ 0.840 μg 线性关系良好,回归方程  $Y = 1\,508.4X - 134.99$  ( $r = 0.999\,9$ ),芍药苷在此色谱系统下精密度良好,RSD 1.35%;供试品溶液在 8 h 内基本稳定,RSD 1.73%;平均加样回收率分别为 98.64%,RSD 1.93%。

**供试品溶液的制备** 精密称取浓缩药液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加入无水乙醇 40 mL,摇匀,超声处理 30 min,取出,放冷,加无水乙醇至刻度,滤过,取续滤液,即得。

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

**2.1.3 总黄酮含量测定<sup>[2]</sup>** 芦丁对照品的配制 精密称取 105 °C 干燥至恒重的芦丁对照品 10.50 mg,置 50 mL 量瓶中,加 45 mL 甲醇超声溶解,取出,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,制成 0.21 g·L<sup>-1</sup> 芦丁对照品溶液。

**供试品溶液的制备** 精密吸取 5 mL 浓缩液,置 50 mL 量瓶中,加入甲醇 40 mL,超声处理 30 min,取出,放冷,加甲醇至刻度,即得。

**标准曲线的绘制与系统适用性考察** 精密吸取芦丁对照品溶液 0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,置 25 mL 量瓶中,分别加入 1% 三氯化铝甲醇溶液 2 mL,摇匀,再加甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,放置 15 min,在 413 nm 处测定吸收度。以溶液质量浓度为横坐标,吸收度为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为  $A = 1.038\,2C - 0.017\,3$  ( $R^2 = 0.998\,9$ ),芦丁在 8.4 ~ 42

mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。仪器在此系统条件下精密度良好,RSD 1.46%;供试品溶液在 90 min 内基本稳定,RSD 1.97%;平均加样回收率 96.76%,RSD 1.88%。

### 2.2 均匀设计法优选水提取工艺研究

**2.2.1 因素水平** 根据方中各味药材所含有效成分(部位)的理化性质和中药提取的规律,选取加水倍量( $X_1$ ),提取次数( $X_2$ ),提取时间( $X_3$ )作为考察因素,采用  $U_9(9^3)$  均匀设计表安排试验。以芍药苷的提取率(权重系数 0.6)和干膏得率(权重系数 0.4)为考察指标,进行综合评价筛选最佳工艺。因素水平见表 1。

表 1 坤安颗粒水提工艺因素水平

水平	$X_1$ 加水倍量/倍	$X_2$ 提取时间/h	$X_3$ 提取次数/次
1	8	1	1
2	8	1	1
3	8	1	1
4	10	1.5	2
5	10	1.5	2
6	10	1.5	2
7	12	2	3
8	12	2	3
9	12	2	3

**2.2.2 均匀设计试验与结果** 按  $U_9(9^5)$  表选取 1, 3, 4 列为均匀设计方案表<sup>[3]</sup>。试验时取 3 倍处方量的赤芍、柴胡、川续断、香附、败酱草等,按均匀设计试验表设计方法进行试验,滤过,浓缩,定容至 250 mL,测定芍药苷提取率和干膏收率。结果见表 2。

表 2 坤安颗粒水提工艺拟水平均匀设计  $U_9(9^3)$  的试验安排及结果

No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	芍药苷 提取率/%	干膏得率 /%	综合评分
1	8	1.5	3	45.94	22.33	57.06
2	8	2.0	2	64.41	28.62	76.82
3	8	1.0	1	34.81	13.48	39.16
4	10	2.0	1	47.60	28.92	65.97
5	10	1.0	3	30.23	11.99	34.35
6	10	1.5	2	90.07	29.53	94.99
7	12	1.0	2	49.78	20.68	57.66
8	12	1.5	1	54.15	28.16	69.44
9	12	2.0	3	74.17	33.76	89.41

注:综合评分 = 芍药苷提取率/芍药苷提取率最大值 × 0.6 × 100 + 出膏率/出膏率最大值 × 0.4 × 100。

**2.2.3 结果分析** 用 DPS 6.55 对试验结果进行逐步回归,回归方程为  $Y = -186.85 - 5.46X_1 + 353.00X_2 - 0.22X_1^2 - 107.40X_2^2 - 17.26X_3^2 + 6.79X_1X_3 + 1.44X_2X_3$ ,调整后的相关系数  $r = 1, S =$

0.032 7,  $F = 71\ 428.46$ 。上述方程经  $F$  检验具有非常显著意义。从回归方程可以求得最佳参数为加水倍量 12 倍,提取时间为 1.67 h,提取 2.49 次。但实际生产中提取 2.49 次不切合实际,综合考虑到生产周期与节省能减排等因素,拟定每次加 12 倍水,第 2 次加水 10 倍量,每次 1.5 h。

**2.2.4 验证试验** 根据均匀试验结果筛选的最佳工艺条件,取处方量的药材,按拟定提取工艺提取,滤过,合并滤液,浓缩定容至 250 mL,测定平均得膏率为 29.11%,芍药苷平均质量分数 88.59%,结果显示拟定的提取工艺稳定可靠,重复性好。

**2.3 均匀设计法优选醇提取工艺**

**2.3.1 因素水平** 根据方中各味药材所含有效成分(部位)的理化性质中药一般提取规律,选取乙醇体积分数( $X_1$ ),提取次数( $X_2$ ),乙醇用量( $X_3$ ),提取时间( $X_4$ )作为考察因素,采用  $U_9(9^4)$  均匀设计表安排实验。以总黄酮提取量(权重系数 0.8)和干膏得率(权重系数 0.2)其作为评价指标,筛选最佳工艺条件。因素水平见表 4。

表 4 坤安颗粒醇提工艺因素与水平

水平	$X_1/\%$	$X_2/\text{次}$	$X_3/\text{倍}$	$X_4/\text{h}$
1	30	1	6	1
2	30	1	6	1
3	30	1	6	1
4	50	2	8	1.5
5	50	2	8	1.5
6	50	2	8	1.5
7	70	3	10	2
8	70	3	10	2
9	70	3	10	2

**2.3.2 均匀设计试验与结果** 按  $U_9(9^5)$  表选取 1, 2, 3, 5 列为均匀设计方案表<sup>[3]</sup>,按处方比例称取 4 处方量的蒲黄、蒺藜、淫羊藿等,按均匀设计试验表设计方法进行试验,提取,滤过,浓缩,定容至 250 mL,测定总黄酮含量和干膏得率,结果见表 5。

**2.3.3 结果分析** 用 DPS 6.55 对试验结果进行逐步回归,回归方程为  $Y = 69.22 + 122.73X_1 + 7.68X_2 - 36.43X_4 + 12.02X_4^2 - 35.078X_1X_2 - 31.99X_1X_4 + 10.85X_2X_4$ ,调整后的相关系数  $r = 0.999\ 8$ ,  $S = 0.113$ ,  $F = 3\ 142.046$ 。上述方程经  $F$  检验具有非常显著意义。从回归方程可以求得最佳参数为加 9.6 倍量 30% 的乙醇,提取 3 次,提取时间为 2 h。

**2.3.4 验证试验** 根据所求得的最优工艺条件进行验证实验,称取处方量药材,按拟定方法提取,滤

过,所得滤液浓缩,定容至 250 mL,测定总黄酮平均含量为 408.58 mg,平均得膏率为 21.19%。结果表明拟定的提取工艺稳定可靠,重复性好。

表 5 坤安颗粒醇提工艺拟水平均匀设计  $U_9(9^4)$  的试验安排及结果

No.	$X_1/\%$	$X_2/\text{次}$	$X_3/\text{倍}$	$X_4/\text{h}$	总黄酮量	干膏得率	综合评分
					/mg	/%	
1	30	1	8	2	352.6	16.53	80.90
2	30	2	10	1.5	397.5	18.34	90.92
3	30	2	6	1	383.9	17.98	88.07
4	50	3	10	1	408.5	18.5	93.09
5	50	1	6	2	376.1	17.02	85.69
6	50	1	8	1.5	375.2	16.83	85.34
7	70	2	6	1	421.3	19.37	96.29
8	70	3	8	1.5	404.6	18.29	92.17
9	70	3	10	2	436.8	20.25	100.00

注:综合评分 = 总黄酮提取量/总黄酮提取量最大值  $\times 0.8 \times 100 +$  出膏率评分出膏率/出膏率最大值  $\times 0.2 \times 100$ 。

**3 小结与讨论**

芍药苷为赤芍主要有效成分之一<sup>[4]</sup>,其含量测定方法成熟,故在进行坤安颗粒的水提取工艺优化筛选过程中,以芍药苷的提取率为评价指标之一。蒺藜、淫羊藿的主要成分为黄酮类成分。现代药理学显示,黄酮类成分具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗肿瘤以及广泛的心血管作用<sup>[5]</sup>。而干膏得率作为有效成分煎出间接控制的一个指标,可以从其大小来判断药效物质提取的多少。因此,分别选用芍药苷提取率、总黄酮提取率和干膏得率为评价指标,对坤安颗粒的水提取工艺和醇提取工艺进行优化筛选,并对均匀设计法对优选的提取工艺进行验证,结果显示,拟定提取工艺稳定可靠,重复性好,从而为坤安颗粒的制备提供了可靠依据。

**[参考文献]**

[1] 中国药典.一部[S].2005:68.  
 [2] 赵大洲,徐本明,刘珂.三氯化铝络合分光光度法测定淫羊藿中总黄酮含量[J].中草药,2004,35(2):213.  
 [3] 曾昭钧.均匀设计及其应用[M].北京:中国医药科技出版社,2005:23,127.  
 [4] 杨媛媛,周刚,马晓康,等.赤芍的研究进展[J].医药导报,2008,27(1):67.  
 [5] 朱海扬,曾慧兰.黄酮类化合物药理作用的研究进展[J].山东医药,2009,49(17):114.

[责任编辑 仝燕]