

# 牛蒡甘草汤的提取工艺优选

邵晶, 樊秦, 郭玫\*, 余晓晖, 段文达  
(甘肃中医学院, 兰州 730000)

**[摘要]** 目的: 优选牛蒡甘草汤的最佳提取工艺条件。方法: 以牛蒡苷含量和干膏得率的综合评分为指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交设计法, 对影响其提取率的重要因素(A)加水量、(B)煎煮时间、(C)煎煮次数进行优选。采用 HPLC 测定牛蒡苷的含量, Hypersil-Keystone  $C_{18}$  色谱柱, 流动相甲醇-水(43:57), 检测波长 280 nm。结果: 优选的最佳水提工艺条件为 8 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 2 h。验证试验显示牛蒡苷质量分数为 20.69%, 干膏得率为 24.37%。结论: 优选出的牛蒡甘草汤水提取工艺稳定可行。

**[关键词]** 牛蒡甘草汤; 正交设计; 提取工艺; 牛蒡苷; 干膏得率

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0046-03

## Optimization of Extraction Conditions of Niubang Gancao Tang by Orthogonal Design

SHAO Jing, FAN Qin, GUO Mei\*, YU Xiao-hui, DUAN Wen-da  
(Gansu University of Traditional Medicine, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the water extraction conditions of Niubang Gancao Tang. **Method:** The  $L_9(3^4)$  orthogonal method was employed to study the best extracted technics through analyzing the content of arctiin by HPLC and the weight of ointment. The determination was carried out on a Hypersil-Keystone  $C_{18}$  column with the mobile phase of methanol and water (43:57), detection wavelength of 280 nm. **Result:** The best technics of extraction process is 10 times amount of water, decocted 3 times, 2 hours each time. Validatvon test showed that

**[收稿日期]** 20100315(012)

**[第一作者]** 邵晶, 硕士, 讲师, 从事中药及其复方制剂研究, Tel:0931-8765394, E-mail:cn221@163.com

**[通讯作者]** \* 郭玫, 硕士, 教授, 从事中药及其复方制剂研究, Tel:0931-8765394, E-mail:yaohua@gszy.edu.cn

可以提高  $GR_{g_1}$  在血清和脑组织中分布和转运效率; 鼻腔给药这种给药途径使  $GR_{g_1}$  在血清和脑组织中的吸收和转运效率分别提高了 5.05, 2.50 倍; 鼻腔喷雾剂的剂型因素使  $GR_{g_1}$  在血清和脑组织中的吸收和转运效率分别提高了 11.80, 3.35 倍。

### 3 讨论

与口服  $GR_{g_1}$  生理盐水溶液相比, 鼻腔给药途径使  $GR_{g_1}$  在脑中的转运速度提高, 在脑中达到 100% 转运的时间缩短; 与鼻腔给  $GR_{g_1}$  生理盐水相比, 鼻腔喷雾剂使得  $GR_{g_1}$  在脑中的 AUC 提高; 因此对于应用  $GR_{g_1}$  预防和治疗中枢神经系统的退行性疾病

来说, 鼻腔给药是良好的给药途径、鼻腔喷雾剂是良好的剂型之一。

### [参考文献]

- [1] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution excretion and metabolism of ginseng saponins II. The absorption, distribution and excretion ginsenoside  $R_{g_1}$  in the rats [J]. Chem Pharm Bull, 1983, 31(1):292.
- [2] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000:183.

[责任编辑 全燕]

20.69% arctiin content, dry extract yield was 24.37%. **Conclusion:** Optimum conditions of water extraction of Niubang Gancao Tang are obtained and the optimized extraction technology is stable and efficient.

[**Key words**] Niubang Gancao Tang; orthogonal design; extracted technics; arctiin; ointment

牛蒡甘草汤出自明《痘治理辨》,由牛蒡子、甘草2味中药组成,临床多用于治疗咽炎,疗效颇佳<sup>[1]</sup>。急性咽炎多系肺胃蕴热,风热搏结所致。方中牛蒡子疏散风热,利咽散结,为君药;生甘草清热解毒,二药合用具表解里消之功,疗效显著<sup>[1]</sup>。临床多采用水煎服,或将二者共研细末后温开水冲服,为进一步提高该复方的临床实用性及方便性,为其成方制剂的研究做前期准备,作者以复方中所含主要有效成分牛蒡苷含量和干膏得率的综合评分作为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计法对其提取工艺进行了优选。

## 1 材料

Agilent 1100型高效液相色谱仪,Agilent Chem Station 色谱工作站,BS110S型塞多利斯电子分析天平(北京塞多利斯天平有限公司),KQ-250TD型超声波清洗仪(上海必能信超声有限公司),101型电热鼓风干燥箱(北京科伟永鑫实验仪器设备厂)。牛蒡苷对照品(由中国药品生物制品检定所提供,批号110819-200606);牛蒡子、甘草药材均购于兰州古代中药研究所,经甘肃中医学院晋玲副教授鉴定均符合《中国药典》2010年版一部标准;甲醇(色谱纯),水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 正交试验设计** 为了更好地遵循传统中医药理论,发挥和研究复方原有的疗效,采用传统的水煎煮提取,以牛蒡苷含量和干膏得率的综合评分为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计法(表1),对影响其提取率的重要因素加水量、煎煮时间、煎煮次数进行优选。

表1 牛蒡甘草汤水煎煮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 提取次数/次
1	8	1	1
2	10	1.5	2
3	12	2	3

**2.2 干膏得率的测定** 将牛蒡子(在铜冲钵中捣碎)与甘草按复方比例以2个处方量精密称定,混合,浸泡30 min后,根据正交试验设计表分别进行提取。将提取液浓缩至小体积后,移置已干燥至恒

重的蒸发皿中,先于水浴上蒸干,然后按2005年版《中国药典》一部附录IXH烘干法进行测定<sup>[2]</sup>。根据所得的干膏重量计算复方的干膏得率。

### 2.3 牛蒡子苷的含量测定<sup>[2,3]</sup>

**2.3.1 色谱条件** Hypersil-Keystone-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(43:57),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长280 nm,柱温20℃,进样量10 μL;理论塔板数按牛蒡苷峰面积计算均不低于1 500。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取牛蒡苷对照品加甲醇制成0.82 g·L<sup>-1</sup>的牛蒡苷对照品溶液。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 精密称取水提取的干浸膏0.15 g于25 mL量瓶中,加甲醇22 mL,30℃下超声(150 W,20 kHz)30 min,定容至25 mL,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液即得供试品溶液。

**2.3.4 测定法** 分别精密吸取上述对照品溶液及各供试品溶液10 μL注入高效液相色谱仪中,按上述色谱条件测定峰面积,计算牛蒡苷的含量。

**2.4 正交试验结果分析** 牛蒡子为方中君药,牛蒡苷其主要有效成分,应作为主要指标考虑;同时为了更好地遵循传统中医药理论,体现复方的整体性,将干膏得率作为另一主要指标考虑。因此设牛蒡苷权重系数为0.6,干膏得率权重系数为0.4,综合评价=干膏得率指标/最大指标×0.4×100+牛蒡苷质量分数/最大指标×0.6×100。从表2的正交试验结果可以直观分析得出,极差数据 $R_B > R_C > R_A$ ,因此影响本复方提取因素主次顺序为:提取时间(B) > 提取次数(C) > 加水量(A);各因素不同水平的影响次序为 $A_3 > A_2 > A_1$ , $B_3 > B_2 > B_1$ , $C_3 > C_2 > C_1$ ,从理论上分析其最佳提取工艺为 $A_3B_3C_3$ ,即加水10倍量,提取3次,每次2 h。

根据对表3所得综合评价指标的方差分析可以看出,因素A的 $P > 0.01$ ,对牛蒡甘草复方的提取工艺无显著性影响;而因素B,C的 $P < 0.01$ ,均对复方提取工艺有显著性影响。因此,综合以上分析结果,并考虑到节省能源,最终确定的最佳工艺为 $A_1B_3C_3$ ,即加8倍量水,煎煮3次,每次2 h。

表 2 牛蒡子甘草复方水煎煮提取工艺正交设计试验

No.	A	B	C	D	干膏得率/%	牛蒡子苷/%	综合评价
1	1	1	1	1	10.87	7.13	37.94
2	1	2	2	2	18.99	15.85	75.91
3	1	3	3	3	24.57	21.14	100.00
4	2	1	2	3	12.56	10.31	49.71
5	2	2	3	1	20.87	18.54	86.60
6	2	3	1	2	21.04	17.28	83.29
7	3	1	3	2	13.13	13.44	59.53
8	3	2	1	3	18.33	14.72	71.62
9	3	3	2	1	23.90	21.14	98.91
$K_1$	213.85	147.18	192.85	223.45			
$K_2$	219.60	234.13	224.53	218.73			
$K_3$	230.06	282.20	246.13	221.33			
R	16.21	135.02	53.28	4.72			

注:综合评价 = 干膏得率/最大值  $\times 0.4 \times 100$  + 牛蒡子苷质量分数/最大值  $\times 0.6 \times 100$ 。

表 3 综合评价的方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	45.03	2	22.51	12.07	
B	3122.38	2	1561.19	837.10	<0.01
C	478.77	2	239.39	128.36	<0.01
误差	3.73	2	1.87		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19$ ,  $F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

**2.5 验证试验** 为了验证所优选的提取工艺的稳定性,根据筛选得到的最佳工艺参数,提取制备 3 批样品,按上述牛蒡子苷含量和干膏得率测定方法进行测定。

结果牛蒡子苷质量分数为 20.69% ( $n = 3$ , RSD 1.75%),干膏得率为 24.37% ( $n = 3$ , RSD 1.42%),说明所筛选的牛蒡子甘草汤的水提取工艺条件稳定可行。

### 3 讨论

牛蒡子系方中君药,牛蒡子苷是牛蒡子抗菌消炎的主要药效物质,因此选择以牛蒡子苷含量作为提取工艺主要的客观评价指标,同时为了遵循传统中医药理论,体现复方的整体性,还选取了干膏得率作为评价指标,进行综合评价。

牛蒡子中还含有挥发油,也是其有效部位之一。考虑到煎煮时间过长,挥发油会有所损失,因此在优选的最佳工艺中,没有对煎煮时间再进行高于 2 h 的考察,但在以后的研究中应综合挥发油提取率进一步进行考察。

牛蒡子为种子类药材,有一层坚硬的外壳,为了便于有效成分的溶出,煎煮前应先将其放在铜冲钵中捣碎,使其外壳破碎即可。但不可采取粉碎的方式,否则不仅杂质溶出多,溶液过滤困难,而且过大的比表面积会对有效成分有吸附作用。

### [参考文献]

- [1] 常连更.牛蒡甘草散治急性咽炎[J].山西中医,1999,15(3):8.
- [2] 中国药典.一部[S].2010:67.
- [3] 孙文基,沙振方,高海.牛蒡子中牛蒡子及其甙元反相高效液相色谱法测定[J].药学学报,1992,27(7):549.

[责任编辑 仝燕]