

正交试验法优选菊明降压颗粒的提取工艺

邓超澄, 冯看, 陈卫卫*, 卢苇, 何春玲, 卢澄生

(广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 优选菊明降压颗粒剂最佳提取工艺。方法: 以得膏率和蒙花苷含量为评价指标, 以乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间和提取次数为主要影响因素, 用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选提取工艺。结果: 最佳提取工艺为加 8 倍量的 70% 乙醇、煎煮 2 次, 每次煎煮 1 小时。结论: 提取工艺稳定、合理、可行。

[关键词] 菊明降压颗粒剂; 正交试验; 提取工艺; 蒙花苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0032-03

Optimization on Extraction Technique of Juming Jiangya Granules with Orthogonal Design

DENG Chao-cheng, FENG Kan, CHEN Wei-wei*, LU Wei, HE Chun-ling, LU Cheng-sheng

(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[收稿日期] 20101230(002)

[基金项目] 广西青年科学基金(桂科青 0832052)

[第一作者] 邓超澄, 讲师, 研究方向: 中药化学成分及质量标准, E-mail: nnhouyucheng@163.com, Tel: 13977197531

[通讯作者] * 陈卫卫, 副教授, 研究方向: 药物新剂型、新剂型, E-mail: weiwei690413@ey-ou.com, Tel: 13211355569

2.5 验证试验 为进一步考察优化工艺的可靠性, 取 3 份药材, 每份 10 g, 按上述最佳提取工艺进行验证试验, 操作方法同上, 甘草苷测定结果分别为 1.66%, 1.58%, 1.62%。检验结果与上述最佳提取工艺无显著差别, 故最佳的提取工艺条件为 $A_3B_3C_2D_2$ 。

3 讨论

甘草苷和甘草酸是甘草药材中活性较强的 2 种化合物, 因基本结构不同, 其理化性质各异, 在生产过程中可分别进行提取分离; 提取甘草苷时发现, 回收乙醇时, 甘草酸易以沉淀形式析出, 因此甘草酸含量过高的药材, 对甘草苷提取后期处理影响较大^[6]。

正交试验结果显示, 乙醇体积分数对甘草苷提取率的影响较大, 从甘草酸和甘草苷的溶解度性质分析, 甘草酸用水煎即可提取^[7], 甘草苷不溶于水, 70% 乙醇提取率较高。

乙醇提取次数对甘草苷的提取有显著性影响,

在 10 倍量乙醇体积下, 提取 2 次即可; 提取最佳时间为 3 h。

[参考文献]

- [1] 郭洪寅. 复方甘草酸苷的临床应用研究[J]. 临床医学, 2010, 30(5): 109.
- [2] 胡小鹰, 彭国平, 陈汝炎. 甘草总黄酮抗心律失常作用研究[J]. 中草药, 1996, 27(12): 733.
- [3] 邢国秀, 李楠, 王童, 等. 甘草黄酮类化学成份的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 593.
- [4] 吴碧华, 杨得本, 龙存国, 等. 甘草总黄酮的体外抗氧化作用[J]. 中国临床康复, 2004, 36(8): 8262.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2010: 80.
- [6] 李红, 李炳奇, 刘红, 等. XDA-1 型树脂对甘草黄酮吸附-解吸效果的研究[J]. 中成药, 2007, 29(6): 830.
- [7] 魏炜, 银建中, 朱彻. 甘草酸及甘草黄酮类物质的提取、精制和应用的研究进展[J]. 化学工业与工程技术, 2005, 26(1): 30.

[责任编辑 全燕]

[Abstract] Objective: The orthogonal test was used to optimize ethanol-extraction technique of Juming Jiangya granules. **Method:** Observation was made on the effect of alcohol concentration, solvent ratio, extraction time and extraction frequency on the extraction result by orthogonal $L_9(3^4)$ design, with the content of linarin as the index. **Result:** The best extraction process was as follows: adding 8 times volume of 70% alcohol, extracting twice and refluxing for 1 h. **Conclusion:** The extraction process of Juming Jiangya granules was stable, reasonable and reliable.

[Key words] Juming Jiangya granules; orthogonal test; extraction technology; linarin

菊明降压颗粒剂^[1]由菊明降压片(收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第二册)剂改而来,由野菊花和决明子2味中药组成,临床上用于治疗原发性高血压、慢性肾炎性高血压。但因原方剂型由原药材打粉压片而成,服用剂量大,不方便临床用药,将其制成颗粒剂可减小服用量,提高生物利用度。本实验拟采用 $L_9(3^4)$ 正交试验,以得膏率和野菊花中有效成分蒙花苷为考察指标,筛选出菊明降压颗粒剂最佳提取工艺,为进一步优化其制备工艺提供参考。

1 仪器与试剂

美国安捷伦 Agilent 1100 高效液相色谱仪, G1314A-VWD 紫外检测器,北京赛多利斯 BS224S 电子分析天平,美国月旭 Welchrom- C_{18} 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m),蒙花苷对照品(批号 080701,购于成都曼思特生物科技有限公司),野菊花和决明子药材均购于广西南宁市老百姓大药房,经广西中医学院韦松基教授鉴定,符合《中国药典》(2005年版I部)有关标准,供试品溶液制备均使用分析纯试剂,高效液相色谱使用试剂为色谱纯试剂。

2 方法

2.1 蒙花苷含量测定

2.1.1 色谱条件 Lichrospher- C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m),流动相^[7-8]乙腈-0.1%磷酸(27:73),流速 1.0 mL·min⁻¹检测波长 324 nm,柱温 35 $^{\circ}$ C。理论塔板数按蒙花苷峰计算不低于 5 000。在上述色谱条件下进样 10 μ L,蒙花苷对照品,供试液和阴性对照的高效液相色谱图见图 1。

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取蒙花苷对照品适量,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,配成含蒙花苷 0.138 g·L⁻¹的对照品贮备溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 根据处方称取药材,按正交设计要求加醇加热回流提取,趁热过滤,滤液回收乙醇,并定容至 1 000 mL。精密量取 10 mL,置分液

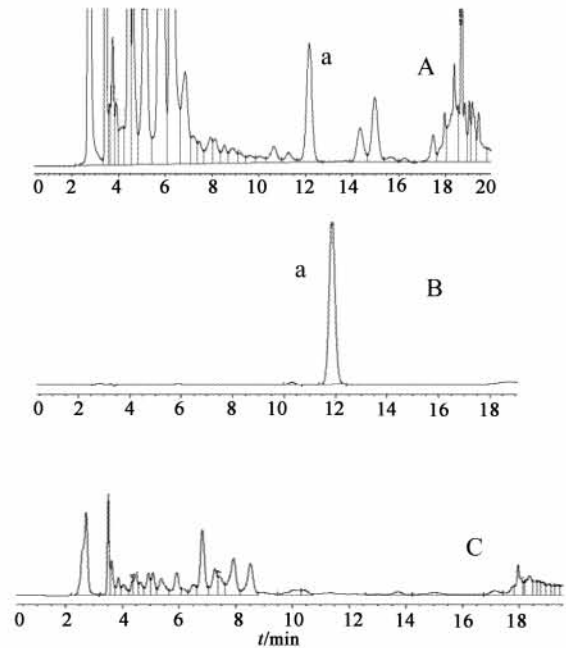


图1 菊明降压颗粒中蒙花苷 HPLC

A. 样品; B. 对照品; C. 阴性对照; a. 蒙花苷

漏斗中,用水饱和正丁醇 20, 20, 10 mL 分别萃取 3 次,分取正丁醇层,于蒸发皿中水浴挥干,残渣用甲醇定容至 10 mL 量瓶中,即得供试品溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 根据处方称取药材(不加野菊花),按 2.1.2 项下方法制备,即得。

2.2 浸膏得率测定 精密量取各乙醇提取液 10 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于烘箱 105 $^{\circ}$ C 干燥 3 h,置干燥器中冷却至室温,迅速精密称重,计算浸膏得率。

2.3 正交试验设计 根据文献报道^[2-6]及预试验结果野菊花和决明子降压的活性成分均具有一定的水溶性和醇溶性,其主要降压成分蒙花苷在醇中溶解度比在水中高,故采用乙醇作为提取溶剂,本文以乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间和提取次数为主要影响因素,每个因素 3 个水平,用 $L_9(3^4)$ 正交表进行工艺优选。提取效果通过 2 个指标考察,一是方中

君药野菊花中的有效成分蒙花苷含量,二是浸膏得率,并按蒙花苷含量、浸膏得率各为 0.5 的权重系数进行综合加权评分。因素、水平设计及正交结果见表 1,2,方差分析见表 3。

表 1 乙醇提取工艺因素水平设计

水平	A 乙醇体积分数 /%	B 提取时间 /h	C 加醇量 /倍	D 提取次数 /次
1	60	0.5	6	1
2	70	1	8	2
3	80	1.5	10	3

表 2 乙醇提取工艺正交试验

No	A	B	C	D	浸膏得率 /%	蒙花苷 /mg·g ⁻¹	综合 评分
1	1	1	1	1	19.64	2.539 4	61.79
2	1	2	2	2	29.93	3.372 9	87.21
3	1	3	3	3	36.52	3.565 3	98.71
4	2	1	2	3	37.40	3.573 8	100
5	2	2	3	1	26.19	3.140 8	78.96
6	2	3	1	2	27.37	3.064 4	79.47
7	3	1	3	2	27.96	2.669 7	74.73
8	3	2	1	3	29.74	3.254 6	85.3
9	3	3	2	1	22.36	3.134 1	73.67
K ₁	82.570	78.840	75.520	71.473			
K ₂	86.143	83.823	86.960	94.670			
K ₃	77.900	83.950	84.133	94.670			
R	8.2543	5.110	11.440	23.197			

表 3 正交试验综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	102.530	2	2.012	>0.05
B(误差)	50.962	2	1.000	
C	213.053	2	4.181	>0.05
D	820.665	2	16.103	>0.05

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.000$ 。

从表 2 数据极差可以看出,影响提取效果的各项因素作用主次为 $D > C > A > B$,得到的最佳提取工艺为 $A_2B_3C_2D_3$ 。以 B 因素为误差项进行方差估算表明,A,C,D 因素均无显著性差异,从生产上节约能源、时间的角度考虑,选定 $A_2B_2C_2D_2$ 为最佳提取工艺,即加 8 倍量的 70% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h。

2.5 验证试验 为了保证提取工艺的重现性和可行性,应对优选的方案进行验证试验,结果表明,该工艺稳定可行,重现性较好,结果见表 4。

表 4 验证试验

No	蒙花苷/mg·g ⁻¹	浸膏得率/%	综合评分	RSD/%
1	3.399	33.56	99.58	
2	3.143	32.77	94.65	2.14
3	3.341	33.84	99.15	

3 讨论

野菊花为本方的君药,主要含有蒙花苷等成分。故采用蒙花苷作为考察指标。因中药复方制剂以多种成分发挥综合疗效,以其中 1 种或几种活性成分往往不能代表处方的药效,因此加以得膏率作为第 2 个考察指标,旨在进一步保证试验数据的准确性。

参照文献采用过多种比例流动相进行预试验,如乙腈-0.1% 磷酸(30:70)、乙腈-0.1% 磷酸(22:78)、乙腈-0.1% 磷酸(23:73)等,结果乙腈-0.1% 磷酸(23:73)作为流动相时蒙花苷峰周围无明显杂质峰,分离度、对称因子均较佳。

在供试品制备中,经水饱和正丁醇液萃取处理过的供试液,杂质峰较少,对蒙花苷的色谱峰无干扰,因此采用水饱和正丁醇对供试品进行纯化处理。

从正交分析结果可知, $A_2B_3C_2D_3$ 为最佳的提取工艺,且从方差分析表可知,各因素水平无显著性差异,为降低生产成本选用提取 2 次,每次 1 h,因此,选定 $A_2B_2C_2D_2$ 为本方的最佳提取工艺。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂. 第 2 册[S]. 北京:人民卫生出版社, 1991:76.
- [2] 陈士翠. 正交试验法优选痤疮平颗粒的提取工艺[J]. 现代中药研究与实践,2006,20(2):54.
- [3] 杨阳,姚华. 药用菊花总黄酮提取方法的比较[J]. 淮海医药,2007,25(6):564.
- [4] 罗显华,郁建生,杨政水. 野菊花总黄酮提取工艺的比较[J]. 安徽农业科学,2007,35(26):8116.
- [5] 阮俊,黄永林. 野菊花总黄酮提取方法研究[J]. 中成药,2004,26(2):153.
- [6] 郭金华. 近年来决明子的药理药化临床研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,1999,6(12):23.
- [7] 陈翠英,袁子民,程岚,等. HPLC 法测定珍菊降压片中蒙花苷含量[J]. 辽宁中医杂志,2007,34(4):501.
- [8] 魏娜,王强. 野菊花及其相关制剂中蒙花苷的含量测定[J]. 药学与临床研究,2007,15(3):221.
- [9] 中国药典. 一部[S]. 2005:219,98.

[责任编辑 全燕]