

肠腹宁颗粒中总黄酮的最佳提取工艺

刘佩沂¹, 赖岳晓¹, 田素英^{2*}

(1. 广东省中山市黄圃人民医院, 广东 中山 528429; 2. 广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:通过正交试验优选肠腹宁颗粒提取工艺。方法:采用正交试验,以总黄酮含量和干膏得率为指标,对肠腹宁颗粒提取工艺进行优选。结果:优选的工艺条件为乙醇超声提取 45 min,料液比 1:10,超声 2 次。结论:正交试验法优选得到的工艺可靠,简单易行。

[关键词] 肠腹宁颗粒;总黄酮;提取工艺;正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0039-02

肠腹宁颗粒是广东省中山市黄圃人民医院研制的医院制剂,由白头翁、木槿花 2 味药组成,组方简单,疗效确切,主要用于急慢性肠炎、小儿腹泻的治疗,特别对慢性结肠炎有独特疗效。黄酮类化合物有明显的抗溃疡、解痉、抗炎及降血脂等系列的生物活性^[1-2],木槿花^[3]有清热凉血,解毒消肿之功,用于治疗痢疾、痔疮出血、白带、疮疖痈肿、烫伤等,主含黄酮类成分,目前无单一指标性成分,因此本研究选用木槿花中总黄酮作为考核指标,采用正交设计优选其提取工艺,以便更好地发挥该制剂的疗效。

1 材料与仪器

TU-1810 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),751 型可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司),AL104-IC 型电子分析天平(梅特勒)。肠腹宁颗粒(中山市黄圃人民医院,批号 2010901,20101008,20091213),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200306)。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计 根据预试验结果,选择超声时间、超声次数、料液比、乙醇体积分数作为考察因素,每个因素各取 3 个水平,各因素、水平见表 1。以总黄酮的含量、干膏得率为评价指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验(表 1)。

表 1 肠腹宁颗粒提取工艺因素水平

水平	A 超声时间 /min	B 料液比 /倍	C 乙醇体积 分数/%	D 超声 数/次
1	30	10	60	1
2	45	20	70	2
3	60	30	80	3

2.2 供试品溶液制备 按处方比例称取白头翁、木槿花药材共 9 份,每份 100 g,按正交试验设计安排分别提取,过滤,取滤液,分别定容至 10 mL 的离心管中,以 $4\ 000\ r \cdot \min^{-1}$ 的转速离心 15 min,取上清液,0.45 μm 滤膜过滤,续滤液作为供试品溶液。

2.3 芦丁标准曲线制备^[4] 精密称取芦丁对照品 20.2 mg,加 80% 乙醇溶解定容于 100 mL 量瓶,得 0.202 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液,备用。精密吸取芦丁对照品溶液 0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加 5% 亚硝酸钠 0.3 mL,摇匀、静置 6 min,再加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL,摇匀、静置 6 min,再加入 4% 氢氧化钠溶液 4 mL,加蒸馏水定容至刻度,摇匀、放置 15 min,以试剂作空白,用紫外-可见分光光度法于 510 nm 波长处测定吸光度,以吸光度值(A)为纵坐标,芦丁质量浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线。得回归方程 $Y = 20.813X + 0.0064$ ($R = 0.9992$),结果表明芦丁对照品在 0.004 ~ 0.032 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取芦丁对照品溶液 0.6 mL,置 10 mL 的量瓶中,按 2.3 项方法操作显色,平行测定 6 次,结果 RSD 0.26%,表明精密度良好。

2.5 稳定性试验 精密吸取上述供试品溶液 0.6 mL,置 10 mL 的量瓶中,按 2.3 项方法操作显色,分别放置 0,10,20,30,40,50,60,70,80,90 min,测定

[收稿日期] 20110126(011)

[基金项目] 广东省中山市卫生局科研项目(2009079)

[第一作者] 刘佩沂,主管中药师,从事中药临床应用等工作, Tel:13549937055, E-mail:liupeiyi@gmail.com

[通讯作者] *田素英,硕士,副教授,从事中药教学与研究工
作, Tel:15362965291, E-mail:zsxqtsy@126.com

各时间点的吸光度,结果 RSD 1.72%,表明供试品溶液在 90 min 内稳定。

2.6 重复性试验 精密吸取供试品溶液各 0.6 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.3 项方法操作显色,测定吸光度,结果 RSD 2.25%,表明重复性良好。

2.7 加样回收率测定 精密称取已知黄酮含量的供试品 5 份,分别加入芦丁对照品适量,按 2.3 项方法操作显色,测定吸光度,计算回收率 99.2%,RSD 0.91%。说明该方法测定结果准确。

2.8 浸膏得率测定 精密量取上述提取液 25 mL,置于已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105℃干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称重,计算浸膏得率。

2.9 正交试验结果

表 2 肠腹宁颗粒提取工艺正交试验

No.	A	B	C	D	黄酮 /mg·g ⁻¹	干浸膏 得率/%
1	1	1	1	1	0.115 4	19.890 0
2	1	2	2	2	0.177 9	21.040 0
3	1	3	3	3	0.136 2	23.150 0
4	2	1	2	3	0.212 3	22.050 0
5	2	2	3	1	0.186 2	26.350 0
6	2	3	1	2	0.150 8	24.850 0
7	3	1	3	2	0.218 6	25.600 0
8	3	2	1	3	0.119 0	24.300 0
9	3	3	2	1	0.142 3	25.420 0
黄酮	K ₁	0.439 5	0.546 3	0.375 2	0.493 9	
	K ₂	0.539 3	0.483 1	0.532 5	0.522 3	
	K ₃	0.479 9	0.429 3	0.551 0	0.510 5	
	R	0.033 3	0.038 9	0.058 6	0.028 4	
干浸膏	K ₁	64.080 0	67.540 0	69.040 0	71.660 0	
得率	K ₂	73.050 0	71.690 0	68.510 0	71.490 0	
	K ₃	75.320 0	73.420 0	75.100 0	69.500 0	
	R	11.240 0	5.880 0	6.590 0	2.160 0	

结果表明:以浸膏得率为评价指标,最佳提取工艺条件为 A₂B₂C₃D₁,各因素的主次顺序为 A,C,B,D,以 D 为误差项的方差分析表明 A 因素对浸膏得率有显著性影响。以黄酮含量为评价指标,最佳提取工艺条件为 A₃B₁C₃D₂,各因素影响程度为 C > B > A > D,即乙醇体积分数与料液比影响较大。

表 3 黄酮含量的方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.005 0	2	0.002 5	12.380 1	>0.05
B	0.006 9	2	0.003 4	16.848 2	>0.05
C	0.018 6	2	0.009 3	0.021 8	<0.05
D(误差)	0.000 5	2	0.000 2	1.000 0	

注:F_{0.05}(2, 2) = 19(表 4 同)。

表 4 干浸膏得率的方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	23.857 0	2	11.928 3	24.799 0	<0.05
B	6.088 0	2	3.044 2	6.328 0	>0.05
C	8.937 0	2	4.456 3	9.290 0	>0.05
D(误差)	0.962 0	2	0.483 6	1.000 0	

3 工艺验证性试验

为了考察上述优选工艺的稳定性,根据正交试验结果,按此最佳工艺条件放大试验,投料量 10 kg,3 批工艺验证结果表明该工艺提取较好,平均干膏得率 24.48% 黄酮含量分别为 0.230 0, 0.226 5, 0.238 5 mg·g⁻¹。

4 讨论

本研究以黄酮为指标,通过正交试验优选最佳提取工艺为用 10 倍量 80% 乙醇超声提取 45 min,2 次。此研究为更加有效的控制该药质量提供科学依据。

黄酮类物质的提取主要有水提取和醇提取 2 种方法,考虑到水提取方法得到的产品杂质较多,后续纯化复杂,本文选用了以乙醇为溶剂的提取方法。

[参考文献]

- [1] 唐德智. 黄酮类化合物的提取、分离、纯化研究进展[J]. 中药与天然药物, 2009, 21(12): 101.
- [2] 于村,俞莎,沈向红. 中草药总黄酮的提取和含量测定[J]. 浙江预防医学, 2002, 14(7): 81.
- [3] 赖岳晓,刘佩沂,田素英,等. 木槿花研究概况及存在问题[J]. 海峡药学, 2010, 22(1): 78.
- [4] 王辉轩,李萌,熊艺. 分光光度法测定健宝灵片中总黄酮含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(6): 20.

[责任编辑 全燕]