

正交试验法优选复方茜草胶囊提取工艺的研究

刘倩¹, 刘永刚², 喇孝瑾¹, 江春花¹, 喇万英^{1*}

(1. 华北煤炭医学院, 河北唐山 063000; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

[摘要] 目的: 优选复方茜草胶囊的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验设计, 以高效液相色谱法测定提取液中 大叶茜草素的含量, 及浸膏得率为指标, 优选复方茜草胶囊的提取工艺。结果: 最佳提取工艺为 10 倍量的 90% 乙醇加热回流 2 次, 每次 2 h。结论: 该提取工艺稳定, 安全, 简便易行。

[关键词] 复方茜草胶囊; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)01-0004-03

Optimization of Extracting Technology for Fufangqiancao Capsules by Orthogonal Test

LIU Qian¹, LIU Yong-gang², LA Xiao-jin¹, JIANG Chun-hua¹, LA Wan-ying^{1*}

(1. North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China;

2. College of Traditional Chinese Pharmacy, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the optimal extraction technology of fufangqiancao capsules. **Methods:** The content of mollugin and dry extractive material taken were set as indexes for Orthogonal test. **Results:** The optimum extraction conditions were 10 fold of 90% alcohol marinating 0.5 h, decocting 2 times and 2h each time. **Conclusion:** The optimum technology of fufangqiancao capsules is simple, stable and effective.

[Key words] fufangqiancao capsules; orthogonal test; extraction technology

复方茜草胶囊是在中医药理论指导下, 由茜草、白茅根、益母草、黄芪 4 味中药组成, 主要用于治疗

临床常见疑难病——IgA 肾病。本文采用正交试验法, 以大叶茜草素和浸膏得率为指标, 对复方茜草胶囊的提取工艺进行研究, 筛选最佳提取工艺。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪; PDA 检测器; 大叶茜草素对照品购自中国药品生物制品检定所; 茜草、白茅根、益母草、黄芪购自同仁堂药店; 经喇万英教授鉴

[收稿日期] 2009-07-13

[基金项目] 华北煤炭医学院博士科研启动基金(BS07006)

[通讯作者] * 喇万英, Tel: (0315) 3726323; E-mail: lwy@nmc.edu.cn

定分别为茜草科植物茜草 *Rubia cordifolia* L. 的干燥根及根茎, 禾本科植物白茅 *Imperata cylindrica* Beauv. var. *major* (Nees) C. E. Hubb. 的干燥根茎, 唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt 的干燥地上部分, 豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根。甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 大叶茜草素的含量测定^[1]

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Agilent Extent C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-四氢呋喃(340: 60: 3); 检测波长: 250 nm; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。此条件下大叶茜草素对照品与其他组分达到基线分离。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取大叶茜草素对照品 4.04 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取各提取液, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.1.4 线性关系 分别精密吸取对照品储备液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 用甲醇稀释并定容于 1 mL 容量瓶中, 进样 10 μL, 按上述色谱条件进行测定, 以大叶茜草素的峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归, 得回归方程 $Y = 6.45 \times 10^6 X - 2.39 \times 10^6$ ($r = 0.9993$)。结果表明: 大叶茜草素在 0.404 ~ 4.04 μg 范围内线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 精密吸取大叶茜草素对照品溶液, 连续重复进样 6 次, 计算相对标准偏差, RSD 为 1.016%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性考察 分别取放置 1, 2, 4, 6, 8 h 的供试品溶液 1, 测定大叶茜草素峰面积, 以考察其稳定性, RSD 值为 1.252%, 表明供试品溶液至少在 8 h 内稳定。

2.1.7 样品含量测定 在上述色谱条件下, 吸取提取各供试品溶液 10 μL, 进样, 测定大叶茜草素峰面积, 按标准曲线方程计算含量。

2.2 干浸膏得率的测定^[2] 精密量取各提取液 25 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 在水浴上蒸干, 于 105 °C 干燥 3 h, 移置干燥器中, 冷却 30 min, 迅速精密称定质量, 计算干浸膏得率。

2.3 正交试验设计 选择乙醇浓度(A)、回流时间

(B)、溶剂用量(C)、提取次数(D)为考察因素, 每个因素设 3 个水平, 以大叶茜草素含量、干浸膏得率为指标, 用 L₉(3⁴) 正交表安排试验(见表 1), 正交试验设计及结果见表 2。对表 2 结果进行统计学处理, 得方差分析(见表 3、表 4)。

2.4 结果分析 对表 2 数据进行直观分析可知, 以浸膏得率为评价指标, 最佳提取工艺条件为 A₁B₃C₃D₃, 各因素的主次顺序为 D、A、B、C; 以大叶茜草素浸出量为评价指标, 其最佳提取工艺条件为 A₃B₃C₂D₁, 各因素的主次顺序为 D、A、C、B。方差分析表明, D 因素对浸膏得率有显著性影响, A、D 因素对大叶茜草素含量有显著性影响(见表 3、表 4)。综合上述分析, 结合实际情况考虑, 确定方案 A₃B₃C₂D₂ 为最佳提取工艺条件, 即用 10 倍量的 90% 乙醇浸泡 0.5 h, 加热回流 2 次, 每次 2 h。

表 1 因素水平表

水平	因素			
	A(%)	B(h)	C(倍)	D(次)
1	70	1	8	1
2	80	1.5	10	2
3	90	2	12	3

表 2 L₉(3⁴) 正交试验设计与结果

试验号	A	B	C	D	含量 (mg · g ⁻¹)	干浸膏 得率(%)
1	1	1	1	1	76.842 06	20.00
2	1	2	2	2	65.669 21	23.10
3	1	3	3	3	59.296 69	28.9
4	2	1	2	3	61.419 13	26.1
5	2	2	3	1	80.501 15	19.25
6	2	3	1	2	56.712 15	27.7
7	3	1	3	2	75.698 86	22.3
8	3	2	1	3	67.975 51	23.75
9	3	3	2	1	106.813 5	17.3
含量 K ₁	201.808 0	213.960 1	201.529 7	264.156 7		
K ₂	198.632 4	214.145 9	233.901 8	198.080 2		
K ₃	250.487 9	222.822 3	215.496 7	188.691 3		
R	51.855 5	8.862 4	32.372 1	75.465 4		
收膏率 K ₁	72.000 0	68.400 0	71.450 0	56.550 0		
K ₂	73.050 0	66.100 0	66.500 0	73.100 0		
K ₃	63.350 0	73.900 0	70.450 0	78.750 0		
R	9.700 0	7.800 0	4.950 0	22.200 0		

表3 大叶茜草素含量的方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	均值	F 值	P 值
A	563.200 5	2.000 0	281.600 2	32.945 2	<0.05
C	175.753 3	2.000 0	87.876 7	10.280 9	>0.05
D	1127.697 5	2.000 0	563.848 7	65.966 1	<0.05
B(误差)	17.095 1	2.000 0	8.547 5	1.000 0	

注： $F_{0.05(2,2)} = 19.00$

2.5 验证试验 为考察上述优选提取工艺的稳定性,按处方量取药材3份加10倍量90%乙醇,提取2次,每次回流2h,分别测定大叶茜草素含量及浸膏得率。结果表明:用优选的工艺条件提取,大叶茜草素含量及浸膏得率均较高,且工艺稳定。

表4 干浸膏得率的方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	均值	F 值	P 值
A	18.890 6	2.000 0	9.445 3	4.136 1	$P > 0.05$
B	10.708 9	2.000 0	5.354 4	2.344 7	$P > 0.05$
D	88.740 6	2.000 0	44.370 3	19.429 9	$P < 0.05$
C(误差)	4.567 2	2.000 0	2.283 6	1.000 0	

注： $F_{0.05(2,2)} = 19.00$

3 讨论

在正交试验中采用茜草中主要成分大叶茜草素及浸膏得率为指标优选工艺,选择可能影响提取的4个因素进行优化,确定了复方茜草胶囊的最佳提取工艺,为进一步研究提供了基础。

试验中发现,提取次数越多,大叶茜草素含量越低。其原因可能是大叶茜草素在乙醇中的溶解度较高,用一定量的乙醇提取1次即能提取出大部分大叶茜草素。在进行多次提取时,其他固形物的量增多,导致大叶茜草素含量相对降低。本文以大叶茜草素作为指标成分进行含量测定,但其不能完全代表复方的药效,因此应综合考虑大叶茜草素含量及干浸膏得率(其他成分)确定工艺。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:化学工业出版社,2005:162.
- [2] 王艳平,夏新华,王杰英,等. 正交试验法优选紫蒲颗粒提取工艺的研究[J]. 2009,31(1):133-134.