

· 工艺与制剂 ·

## 牛黄上清微丸提取工艺研究

王锦玉, 任谦, 仝燕\*, 李建荣, 王智民  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 优选牛黄上清微丸提取方法。方法: 采用  $L_9(3^4)$  正交实验, 以大黄素、大黄酚及黄芩苷为指标评价大黄和黄芩的醇提取工艺; 采用  $L_9(3^4)$  正交实验, 以栀子苷为指标评价栀子等其余药物水提取工艺。结果: 大黄、黄芩的醇提取部分最佳工艺为加 5 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h; 栀子等其余药物水提取最佳工艺为加 10 倍量水, 提取 2 次, 每次 1 h。结论: 提取工艺设计合理, 方法可行, 对大生产有指导意义。

[关键词] 牛黄上清微丸; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0001-04

### Extraction Method of Niuhuang Shangqing Pellets

WANG Jin-yu, REN qian, TONG Yan\*, LI Jian-rong, WANG Zhi-min

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the best extraction method of Niuhuang Shangqing pellets. **Method:**  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment was adopted to optimize the alcohol extraction process of rhubarb and baicalin with the yeild of emodin, chrysophanol and baicalin as evaluation target;  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment was adopted to optimize the water extraction process of the rest herbs with the yeild of geniposide as evaluation target. **Result:** Optimum alcohol-extracting factors were 5 times of 70% alcohol, circum-fluence extracting for 1.5 h, for 3 times; Optimum water-extracting factors were 10 times of water, refluxing and extracting for 1h, for 2 times. **Conclusion:** The extraction method was designed reasonable and it was instructive to industrial production.

**[Key words]** Niuhuang Shangqing pellets; extraction method

牛黄上清丸是中医治疗实热证的经典方剂之一, 首载于明代李挺的《医学入门》, 由牛黄, 薄荷, 菊花, 荆芥穗, 白芷, 川芎, 栀子, 黄连, 黄柏, 黄芩, 大黄, 连翘, 赤芍, 当归, 地黄, 桔梗, 甘草, 石膏, 冰片共 19 味药材组成。其具有清热泻火、散风止痛之功

效, 用于热毒内盛、风火上攻所致的头痛眩晕, 目赤耳鸣, 咽喉肿痛, 口舌生疮, 牙龈肿痛, 大便燥结。目前市场上该药有丸剂、片剂和胶囊剂 3 种剂型, 但制剂中都保留全部或部分药材原粉, 服用量大。将牛黄上清制成微丸剂, 具有外形美观, 服用量小, 释药速度快, 不受胃肠节律的影响等特点, 易于患者接受。本文根据处方组成及药物有效成分的性质, 对牛黄上清微丸的提取工艺路线进行设计和实验。

#### 1 材料

人工牛黄, 薄荷, 菊花, 荆芥穗, 白芷, 川芎, 栀子, 黄连, 黄柏, 黄芩, 大黄, 连翘, 赤芍, 当归, 地黄, 桔梗, 甘草, 石膏, 冰片药材均购于北京同仁堂饮片厂。对照品黄芩苷(批号 0715-9506)、大黄素(批号 756-8902)、大黄酚(批号 0796-9404) 栀子苷(批号

[收稿日期] 20100312(002)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项-综合性中药新药研究开发技术大平台(2009ZX09301-005); “重大新药创制”科技重大专项-中药生产技术与过程控制技术标准平台(2009ZX09308-003)

[第一作者] 王锦玉, 助理研究员, 研究方向: 中药新剂型, Tel: 13683284092

[通讯作者] \* 仝燕, 研究员, 研究方向: 中药新剂型, Tel: 010-84027721, E-mail: tongyan1012@sohu.com

0749-200007) 均购于中国药品生物制品检定所。甲醇、乙腈为优级醇, 乙醇为药用级, 其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 提取工艺路线的选择** 大黄、黄芩 2 味药主要为黄酮类、蒽醌类和蒽醌苷类成分, 宜采用乙醇回流提取; 栀子、川芎、黄连、黄柏、赤芍、当归, 地黄, 桔梗, 甘草, 石膏 10 味药, 有效成分为水溶性物质, 宜采用水提醇沉方法提取; 薄荷、菊花、荆芥穗、白芷、连翘挥发油含量较高, 宜采用蒸馏的方法提取挥发油后再水煎。

## 2.2 提取工艺条件优选

**2.2.1 大黄和黄芩的醇提取研究** 含量测定方法: 精密吸取提取液样品适量, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液, 按 2005 年版《中国药典》一部大黄及黄芩药材含量测定方法项下所述方法测定大黄素、大黄酚及黄芩苷的含量。提取时间的考察: 按处方比例称取一定量的大黄、黄芩, 共 81 g, 加 5 倍量 70% 乙醇回流提取 1 次, 时间分别为 1.5, 2, 2.5 h, 测定大黄素和大黄酚的提出量。结果

显示提取时间无明显差异, 故确定每次提取时间为 1.5 h。见表 1。大黄、黄芩提取工艺正交实验设计: 根据上述实验结果, 确定每次提取时间为 1.5 h, 对乙醇浓度、乙醇用量及提取次数进行考察。按处方比例称取一定量的大黄、黄芩, 共 81 g, 9 份, 选用  $L_9(3^4)$  正交实验表, 以大黄素、大黄酚和黄芩苷含量为评价指标, 按方法进行含量测定, 计算提出量, 实验设计及结果分析见表 2~4。

表 1 大黄和黄芩每次提取时间的考察

No	提取时间 /h	大黄素提出量 /mg	大黄酚提出量 /mg
1	1.5	22.96	98.48
2	2	23.92	100.36
3	2.5	24.69	99.67

表 2 乙醇提取正交试验因素水平

水平	A	B	C
	乙醇体积浓度 /%	乙醇用量 /倍	提取次数 /次
1	60	4	1
2	70	5	2
3	80	6	3

表 3 乙醇提取正交试验安排与结果

No	A	B	C	D	大黄素提出量	大黄酚提出量	黄芩苷提出量
1	1	1	1	1	10.0	17.8	795
2	1	2	2	2	22.1	58.9	1 566
3	1	3	3	3	29.3	74.6	1 899
4	2	1	2	3	26.8	69.3	1 296
5	2	2	3	1	35.7	109.8	2 028
6	2	3	1	2	24.8	65.6	979
7	3	1	3	2	41.3	116.1	1 661
8	3	2	1	3	29.7	65.9	809
9	3	3	2	1	32.2	73.2	1 546
大黄素	$K_1$	61.4	78.1	64.5	77.9		
	$K_2$	87.3	87.5	81.1	88.2		
	$K_3$	103.2	86.3	106.3	85.8		
大黄酚	$K_1$	151.3	203.2	149.3	200.8		
	$K_2$	244.7	234.6	201.4	240.6		
	$K_3$	255.2	213.4	300.5	209.8		
黄芩苷	$K_1$	1 420.00	1 250.67	861.00	1 456.33		
	$K_2$	1 434.33	1 467.67	1 469.33	1 402.00		
	$K_3$	1 338.67	1 474.67	1 862.67	1 334.67		

表 4 乙醇提取方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	296.76	2	148.38	15.33	<0.1
大黄素 B	17.45	2	8.72	0.90	-
C	295.32	2	147.66	15.25	<0.1
误差 Se	19.36	2	9.68	-	-
A	2181.00	2	1090.50	7.51	-
大黄酚 B	171.05	2	85.52	0.59	-
C	3 932.96	2	1 966.48	13.54	<0.1
误差 Se	290.41	2	145.20	-	-
A	15 972.67	2	7 986.33	0.72	-
黄芩苷 B	97314.00	2	48 657.00	4.37	-
C	1 528 116.67	2	764 058.33	68.56	<0.05
误差 Se	22 288.67	2	11 144.33	-	-

注:  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ ,  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{0.10}(2, 2) = 9.00$  (表 11 同)。

根据正交结果表和方差分析可知: 以大黄素和大黄酚为考察指标, 大黄提取的最佳工艺为:  $A_3 B_2 C_3$ 。黄芩提取的最佳工艺为:  $A_2 B_3 C_3$ , A 因素中黄芩苷 70% 乙醇和 80% 乙醇提取, K 值十分接近, 为节约生产成本及符合防爆设计要求, 选择 70% 乙醇回流提取。B 因素三水平间无明显差异, 大黄素和大黄酚 5 倍量乙醇较好, 而黄芩苷的  $K_2$  与  $K_3$  接近, 因此选用 5 倍量乙醇提取。提取工艺确定为  $A_2 B_2 C_3$ , 即分别加入 5 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h。

### 2.2.2 栀子等药物提取精制工艺技术条件的研究

含量测定方法: 精密吸取提取液及醇沉样品适量, 用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液, 按 2005 年版《中国药典》一部栀子药材含量测定方法项下所述方法测定栀子苷含量。水提取工艺: 栀子、黄连、黄柏、赤芍、地黄、桔梗、当归、川芎、甘草、当归、石膏将采用水提取方法。采用 4 因素 3 水平正交试验, 以栀子苷提出量为指标, 对水提取时间、提取次数及加水量进行考察。按处方比例称取上述药材等量 9 份, 每份 98.4 g, 再按  $L_9(3^4)$  表规定的条件分别制备 9 份样品, 每份样品提取液均定容到 900 mL, 按 方法取样测定栀子苷质量浓度, 实验设计及结果分析见表 5~7。醇沉淀工艺: 药材水煎煮后采取浓缩醇沉的方法, 以达到提高有效成分含量, 减少药物服用剂量的目的。考察了不同相对密度的浸膏, 在 70% 乙醇沉淀条件及不同乙醇浓度对相同密度浸膏的影响。结果见表 8, 9。

结合直观分析的结果和工业生产的实际情况, A 因素选择提取 60 min, B 因素选择提取 2 次, C 因素选择 10 倍水提取, 即  $A_2 B_2 C_2$ , 每次用 10 倍量水, 提取 2 次, 每次 1 h。

表 5 水提取正交因素水平

水平	A 提取时间 / min	B 提取次数 / 次	C 水用量 / 倍
1	45	1	8
2	60	2	10
3	90	3	12

表 6 水提取正交试验安排及试验结果

No	A	B	C	D	栀子苷 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
1	1	1	1	1	0.188 6
2	1	2	2	2	0.311 7
3	1	3	3	3	0.263
4	2	1	2	3	0.229 8
5	2	2	3	1	0.305 9
6	2	3	1	2	0.295 6
7	3	1	3	2	0.243 9
8	3	2	1	3	0.305 8
9	3	3	2	1	0.273 9
$K_1$	0.25	0.22	0.26	0.26	
$K_2$	0.28	0.31	0.27	0.28	
$K_3$	0.27	0.28	0.27	0.27	

表 7 水提取方差分析

因素	SS	f	MS	F	P
A	0.000 9	2	0.000 5	0.079	
B	0.011 7	2	0.005 9	10.01	<0.1
C	0.000 1	2	0.000 1	0.11	
误差 Se	0.001 2	2.00	0.000 6		

表 8 固定醇沉浓度 70%, 浓缩程度考察

No	浸膏密度 (60 )	干膏得率 / %	栀子苷提取总量 / mg
1	1.10	23.6	278.1
2	1.15	19.8	285.1
3	1.2	16.1	274.2
4	1.25	14.2	236.1

注: 每个样品生药量均为 240 g (表 9 同)。

表 9 固定浸膏的相对密度为 1.20(60 ), 醇沉浓度考察

No	乙醇体积分数 / %	干膏得率 / %	栀子苷提取总量 / mg
1	60	15.7	248.688
2	70	16.1	270.48
3	80	16.0	261.12

上述结果表明: 固定醇沉浓度 70%, 在相对密度 1.20 以下栀子苷提出量变化不大。综合考虑除杂效果与生产成本, 选择 1.18 ~1.22(60 ) 为浸膏最佳密度范围。固定浸膏密度条件, 60% 乙醇沉淀药液分层不好, 滤过时损失较大, 栀子苷提出量降低, 70% 乙醇沉淀药液分层好, 干膏得率及栀子苷提出量与 80% 醇沉相近, 为节约成本, 选择 70% 醇沉。

### 3 讨论

大黄、黄芩的醇提取工艺中, 大黄提取的最佳工艺为:  $A_3 B_2 C_3$ 。黄芩提取的最佳工艺为:  $A_2 B_3 C_3$ , 最后选定条件为  $A_2 B_2 C_3$ 。按照上述 3 个工艺条件制备 3 批, 进行对比实验验证, 结果显示三者均无显著性差异, 选用  $A_2 B_2 C_3$  工艺为可行方案, 经过计算, 大黄的转移率为 70.4%, 大黄酚的转移率为 68.2%, 黄芩苷的转移率为 72.5%, 表明大黄和黄芩的提取工艺可靠。

栀子为干燥成熟果实, 质地较坚硬, 外层有蜡脂, 因此需要考察粉碎情况是否利于其有效成分的

提取。称取 2 份栀子药材等量, 一份为完整果实, 另一份经过打碎, 成粗粉状。2 份样品均经过 14 倍量沸水提取 2 次, 每次 1 h。合并药液定容至相同体积, HPLC 法测定栀子苷含量。结果表明, 栀子未粉碎提取液中栀子苷质量浓度为  $0.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 经粉碎提取后提取液中栀子苷质量浓度为  $1.67 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 效率明显提高 3 倍多, 因此, 栀子需要进行打碎前处理。

对薄荷等 5 味药材的提取研究包括挥发油的提取时间及加水量的优选, 剩余药材残渣进行水煎回流提取工艺优选, 最终工艺确定为 6 倍量水, 提取 2 h, 收集挥发油后, 再加入 6 倍水提取 45 min 即可。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 378.

[责任编辑 仝燕]

## 欢迎订阅 2011 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管, 中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物, 已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”; “中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊; 并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月, 本着提高为主, 提高与普及相结合的办刊方针, 主要设置: 工艺与制剂、化学与分析、药理、临床、综述、经验交流、基层园地、消息等栏目, 交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药, 尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者, 以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊, 16 开本, 224 页, 标准刊号: ISSN1005 - 9903; CN11 - 3495/R。每期定价 25 元, 全年 600 元。国内外公开发售, 国内由北京市报刊发行局办理总发行, 邮发代号: 2 - 417; 国外由中国国际图书贸易总公司办理发行, 代号: BM4655. 欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址: 北京市东直门内南小街 16 号, 《中国实验方剂学杂志》编辑部, 邮编: 100700, 联系电话: (010) 84076882, 电子邮件: czd@vip.sina.com, 网址: www.syfjxzz.com