

慈菇消脂丸提取工艺试验研究

王谨慧^{*}, 靳子明, 杨少军

(甘肃中医学院附属医院, 甘肃 兰州 730020)

[摘要] 目的: 确定慈菇消脂丸的最佳水提取工艺条件。方法: 以提取物中总黄酮总量为检测指标, 采用正交试验法, 分别考察加水量、煎煮时间、煎煮次数等因素对提取率的影响。结果: 煎煮次数对检测指标影响最大, 最佳提取工艺为 $A_1 B_3 C_3$, 即加 8 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 1.5 小时。结论: 实验结果对制剂生产实践具有重要的指导意义。

[关键词] 慈菇消脂丸; 正交试验法; 提取工艺; 总黄酮

[中图分类号] R286.3, 285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)12-0031-03

[收稿日期] 2008-04-10

[基金项目] 甘肃省兰州市科技局发展计划项目(2005-1-31)

[通讯作者] * 王谨慧, Tel: (0931) 8635920, E-mail: limaox2005@yahoo.com.cn。

慈菇消脂丸由山慈菇、生山楂、黄芩、何首乌等组成^[1]。方中山楂、黄芩等含有大量黄酮类成分,具有良好的降脂作用^[2-4]。为了确定合理的制备工艺,更好的提高该制剂质量,本文设计正交试验法,以提取物中总黄酮总量为指标考察其制备工艺,报道如下:

1 仪器与材料

仪器 HP 8453 型紫外可见分光光度计(美国惠普公司);电子分析天平(Sartorius 公司 BP210S)。

材料 慈菇消脂丸处方药材购自兰州黄河药材市场,芦丁标准对照品(110753-200508)购买自中国生物制品药品检定所,其它化学试剂均为分析纯。

1.1 样品中总黄酮的含量测定^[5]

1.1.1 对照品溶液及样品溶液的制备 精密称取芦丁对照品 200.1 mg 于 100 mL 容量瓶中,加入 70% 乙醇 70 mL,置水浴上微热溶解,放冷后 70% 乙醇定容,精密吸取 10 mL 蒸馏水稀释到 100 mL 即得对照品溶液(0.2 mg/mL)。取干燥至恒重的实验提取物,研匀,精密称重 60 mg 于 10 mL 容量瓶中,加入 70% 乙醇 7 mL,置水浴上微热,时时振摇,放冷后 70% 乙醇定容,放置 4 h,精密吸取上清溶液即得样品溶液。

1.1.2 检测方法的建立 精密量取对照品溶液各 1.2 mL 及样品溶液 0.4 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,蒸馏水补齐到 1.2 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 0.4 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 0.4 mL,摇匀,加氢氧化钠试液 4 mL,蒸馏水定容,摇匀,放置 15 min;用 UV 紫外-可见分光光度计于 300~ 800 nm 波长间进行扫描,结果显示样品溶液与芦丁对照品溶液显色后紫外-可见吸收图谱基本一致,在 500 nm 波长处有最大吸收,可以用来测定样品中总黄酮含量。

1.1.3 标准曲线的制作 精密量取对照品溶液各 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,蒸馏水补齐到 2.0 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 0.4 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 0.4 mL,摇匀,加氢氧化钠试液 4 mL,蒸馏水定容,摇匀,放置 15 min;测定 500 nm 处吸收度,以浓度和吸收度作标准曲线,得回归方程为 $A = 1.2 \times 10^{-2} C + 5.0 \times 10^{-4}$, $R = 0.9993$, 芦丁浓度与吸收度(8~ 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)具有良好的线性关系。

1.1.4 稳定性试验 精密吸取对照品溶液和样品溶液适量,按标准曲线项下操作显色,每隔 2 min 测定吸收度,结果表明,对照品溶液在显色后 120 min

内吸收度基本稳定,样品在显色后 50 min 内吸收度基本稳定。

1.1.5 精密度试验 精密吸取样品对照品溶液 1.2 mL 6 份,按标准曲线项下操作显色,测定吸收度,分别为 0.294 0, 0.294 4, 0.291 3, 0.291 5, 0.293 8, 0.295 5,平均 0.293 4, RSD 为 0.574% ($n = 6$)。

1.1.6 重复性实验 取同一批号的慈菇消脂丸提取物适量研匀,精密称取 6 份,按照 2.1.1 项制备样品溶液,再参照标准曲线项下方法测得其吸收度并依据标准曲线计算总黄酮含量,分别为 86.58, 85.16, 85.38, 89.76, 87.96, 86.93 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD = 1.97%,表明分析方法的重复性良好。

1.1.7 加样回收率的测定 精密称取已知含量的本品 9 份,1~ 3 号加入芦丁对照品 2.5 mg,4~ 6 号加入芦丁对照品 5 mg,7~ 9 号加入芦丁对照品 7.5 mg,参照 2.1.1 项下配制样品溶液,再参照标准曲线项下方法测得总黄酮含量并计算相应的回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率考察

样品	已知量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	5.301	2.5	7.736	97.4		
2	5.301	2.5	7.721	96.8		
3	5.301	2.5	7.761	98.4		
4	5.301	5.0	10.211	98.2		
5	5.301	5.0	10.161	97.2	99.09	2.05
6	5.301	5.0	10.276	99.5		
7	5.301	7.5	12.816	100.2		
8	5.301	7.5	12.899	101.3		
9	5.301	7.5	13.011	102.8		

1.1.8 精密度实验 取对照品溶液 1.2 mL 6 份于 10 mL 容量瓶中,照 2.3.2 项下进行显色,测定 500 nm 波长处吸收度值,平均值为 0.293 4, RSD = 0.57%。

1.2 正交实验设计 采用正交试验 $L_9(3^4)$, 筛选因素为加水量、煎煮时间、煎煮次数,各因素分设 3 个水平。表头设计见表 2。试验时按 1/5 处方比例称取生药,合计 52 g,按正交试验号进行水煎提取,药液滤过,浓缩蒸干。固形物中总黄酮总量为评价指标,结果见表 3。

1.3 方差分析 上述实验方差分析结果表明(表 4),对于提取固形物中总黄酮总量来说,各因素均无显著性差异,但从极差结果看,各因素影响大小的顺

序为 C> B> A, 最佳提取工艺为 A₁B₃C₃; 因此最终的提取工艺应该为 A₁B₃C₃, 即加 8 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 1.5 h。

表 2 煎煮提取工艺条件正交试验表头

水平	因 素			
	加水量(倍)A	煎煮时间(h)B	煎煮次数(次)C	空白D
1	8	0.5	1	1
2	10	1.0	2	2
3	12	1.5	3	3

表 3 提取固形物中总黄酮量正交实验结果

因素	A	B	C	D	总黄酮总量 (mg)
1	1	1	1	1	452.50
2	1	2	2	2	883.43
3	1	3	3	3	1 272.45
4	2	1	2	3	804.18
5	2	2	3	1	920.68
6	2	3	1	2	801.47
7	3	1	3	2	847.68
8	3	2	1	3	716.17
9	3	3	2	1	793.94
I	2 608.38	2 104.36	1 970.14	2 167.12	
II	2 526.33	2 520.28	2 481.55	2 532.58	
III	2 357.79	2 867.86	3 040.81	2 792.80	
极差	250.59	763.50	1 070.67	625.68	

表 4 提取固形物中总黄酮量正交实验结果方差分析表

偏差平方和	自由度	方差	F 比	F 临界值 P< 0.05	F 临界值 P< 0.01	显著性	
A	10 881.5	2	5 440.7	—	19.000	99.000	
B	97 414.8	2	48 707.4	1.27	19.000	99.000	
C	191 182.9	2	95 591.5	2.49	19.000	99.000	
D	65 861.2	2	32 930.6	—	19.000	99.000	
误差*	76 742.7		38 371.3	1.00	19.000	99.000	

* 由于 A 项方差小于 D 项, 误差项= A+ D。

1.4 验证性实验 根据上述优选结果, 按 1/5 处方比例称取生药, 合计 52 g, 进行 5 次验证实验, 所得提取物中总黄酮总量平均达到 1 269.18 mg, 结果见表 5。

表 5 正交实验条件验证性结果

编号	固形物重量 (g)	总黄酮百分含量 %	总黄酮总量 (mg)
1	14.110	9.250	1 256.25
2	14.231	9.011	1 287.98
3	14.256	9.123	1 249.87
4	14.578	8.975	1 267.25
5	14.056	8.721	1 284.57
平均	14.246	9.016	1 269.18

2 结论

中药复方制剂提取工艺的优劣、合理与否直接影响到制剂的质量。尽可能多地提取有效成分, 同时又最大限度地除去杂质, 是提取工艺研究的目标和核心, 同时也是提高制剂临床疗效的前提。

慈菇消脂丸中的山楂、黄芩等多种组药均含有黄酮类成分, 具有良好的生理活性。优化提取工艺保留黄酮类成分, 去处杂质能为丸剂的制备提供便利, 也可减少病人服药量。正交实验结果表明增加煎煮次数, 延长煎煮时间能提高黄酮类成分的提取率。最终确定的提取工艺稳定、有效, 对制剂生产实践具有重要的指导意义。

[参考文献]

- [1] 郑 昱, 杨少军. 慈菇化脂方治疗脂肪肝 50 例[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(5): 67-68.
- [2] 姚思宇, 赵 鹏, 李 彬, 等. 黄酮降血脂功效的动物试验[J]. 中国热带医学, 2006, 3(3): 531-532.
- [3] 缪亚东, 欧阳臻, 江 涛, 等. 正交试验优选葛根、山楂降脂有效部位的纯化工艺[J]. 中国药房, 2006, 17(11): 875-877.
- [4] 佟继铭, 刘玉玲, 符景春. 黄芩茎叶总黄酮调血脂作用研究[J]. 中草药, 2000, 31(3): 196-198.
- [5] 国家药典委员会, 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 541, 575, 578, 594.