

正交实验优化黄蒿消炎颗粒的乙醇提取工艺研究

黄娟, 李俊各, 刘茜, 吕霞, 黎婧, 赵静

(成都中医药大学药学院, 成都 610075)

摘要: 目的: 对黄蒿消炎颗粒的乙醇提取工艺进行优化。方法: 采用正交试验法, 以欧前胡素的含量和干浸膏收率为考察指标, 对乙醇浓度、提取时间、提取次数和溶剂用量等 4 个因素进行研究。结果: 最佳工艺为用 8 倍量的 60% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5h。结论: 应用该工艺提取效率高, 合理、稳定可行, 适合工业化生产。

关键词: 黄蒿消炎颗粒; 正交试验; 欧前胡素; 提取工艺

中图分类号: R284.2;R283.6

Orthogonal optimization of the ethanol extraction technology for Huanghaoxiaoyan Granules

Huang Juan, Li Junge, Liu Qian, Lv Xia, Li Jing, Zhao Jing

(Chengdu University of TCM, ChengDu 610075)

Abstract: To optimize the ethanol extraction technology for Huanghaoxiaoyan Granules. Methods: Orthogonal test was adopted in the study. on the ethanol concentration, extraction time, extraction times and solvent dosage of 4 factors, and the rate of harvesting of the extract, the contents of ammidin were used as indices of appraisal. Results: The best technology for the use of 8 times 60% ethanol and extracted three times, each time 1.5h. Conclusion: The application of the extraction process is efficient, reasonable and practicable, suitable for industrial production.

Keywords: Huanghaoxiaoyan Granules; Orthogonal experiment; ammidin; extract artwork

黄蒿消炎颗粒是由黄芩、白芷等组成的中药新药复方制剂, 具有清热泻火、消肿止痛的功效。根据处方中各药材有效成分或有效部位的性质, 确定了白芷等药材以乙醇回流法提取。本文拟以欧前胡素的含量和干浸膏收率为评价指标, 通过正交实验设计法, 采用 HPLC 含量测定方法^[1-2], 对提取条件进行了考察优化, 为该药的制剂研究提供实验依据。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪 (SPD-20A 紫外检测器); METTLER TOLEDO 电子天平 (AB204-E); 色谱柱: Welchrom-C18 (4.6*250mm, 5 μ m); 欧前胡素对照品: 由中国药品生物制品检定所提供; 甲醇为色谱纯; 纯净水 (乐百氏纯净水), 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计

试验选择乙醇浓度 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 和溶剂用量 (D) 4 个因素, 按表 1 的条件进行 $L_9 (3^4)$ 正交试验, 对干浸膏收率和欧前胡素两个指标进行考察。

作者简介: 黄娟 (1987-), 女, 现为成都中医药大学中药药剂学硕士研究生, 主要从事方向: 中药制剂. E-mail: huangjuan-2008.ok@163.com

表 1 因素水平表
Tab.1 Independent variables and levels

水平	因素			
	乙醇浓度 A	提取时间(h) B	提取次数 C	溶剂用量(倍) D
1	60	1	1	6
2	70	1.5	2	8
3	80	2	3	10

2.2 浸出物得率的测定

上述所得 9 个正交试验提取液分别定容到一定体积。各精密量取 20ml 至已恒重的蒸发皿中，水浴蒸干，于 105℃ 烘箱中干燥 3h，取出置干燥器内冷却 30min 后迅速精密称重，计算浸出物得率，结果见表 2。

2.3 欧前胡素的含量测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱：Welchrom-C18，5 μ m，4.6*250mm，流动相为甲醇-水（70：30）^[3]，流速为 1.0ml/min，检测波长为 300nm，柱温 35℃。以上色谱条件下所得的图谱见图 1。

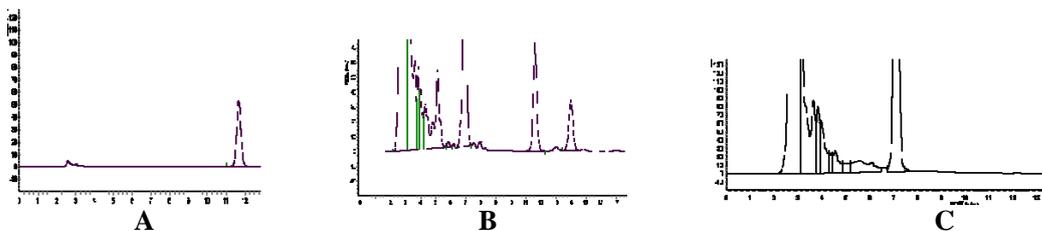


图 1 A 对照品溶液 B 样品溶液 C 阴性

2.3.2 对照品及供试品溶液的制备

2.3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取欧前胡素对照品 6.31mg 置 100ml 容量瓶中，用甲醇溶解，稀释至刻度。

2.3.2.2 供试品溶液的制备 按处方比例称取白芷等药材适量置于 1000ml 圆底烧瓶中，按表 1 条件进行操作。每次提取之后过滤，合并滤液，定容。精密吸取 20ml 于蒸发皿中，低温蒸干，用甲醇定容并转移至 10ml 容量瓶中，超声 5min，放冷，加甲醇至刻度，摇匀即得。

2.3.3 线性关系考察

精密吸取对照品（63.1 μ g/ml）溶液 2、4、8、10、16 μ l，按上述色谱条件注入液相色谱仪，测定。以进样量为横坐标，相应峰面积为纵坐标，计算回归方程为： $Y=175012X+3322.5$ （ $r=0.9997$ ）。结果表明欧前胡素在 0.1262-1.0096 μ g 之间有良好的线性关系。

2.3.4 样品含量测定

分别取 2.3.2 项下得到的 9 组供试品溶液，0.45 μ m 微孔滤膜过滤，各精密吸取 5 μ l，分别进样，测定峰面积，计算欧前胡素的含量。结果见表 2。

2.4 正交试验结果及方差分析

对所得数据进行直观分析和方差分析,结果见表2和表3。可见,在乙醇浓度、提取时间、提取次数和溶剂用量4个因素中,C因素即提取次数有显著性影响,影响因素 $C>A>D>B$;且 C_3 , A_1 为最佳, B_2 与 B_3 , D_2 与 D_3 差不多,从大生产节约成本考虑选 B_2 和 D_2 ,故提取最佳工艺为:加8倍量60%乙醇,提取3次,每次1.5小时。

表2 正交试验结果
Tab.2 Results of orthogonal test

试验号	因素				干膏得率 X/(%)	欧前胡素含量Y/ (mg/g)	综合评分 S
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	13.26	0.77	68.53
2	1	2	2	2	18.78	1.06	95.16
3	1	3	3	3	21.36	1.02	97.84
4	2	1	2	3	17.87	0.95	87.32
5	2	2	3	1	18.67	0.87	84.27
6	2	3	1	2	13.84	0.88	75.59
7	3	1	3	2	16.52	0.89	81.60
8	3	2	1	3	12.14	0.80	68.15
9	3	3	2	1	14.18	0.86	75.45
K_1	261.53	237.46	212.26	228.25			
K_2	247.18	247.58	257.93	252.35			
K_3	225.20	248.88	263.72	253.31			
R	12.11	3.81	17.15	8.36			

$$S = (X/X_{\max}) \times 40 + (Y/Y_{\max}) \times 60$$

表3 正交试验方差分析
Tab.3 Variance analysis

方差来源	离差平方和 (SS)	自由度 (V)	均方 (MS)	F值	P
A	223.28	2	111.64	8.57	
B	26.06	2	13.03	1.00	
C	529.60	2	264.80	20.32	*
D	134.49	2	67.24	5.16	

$$F_{0.01}(1,2)=99$$

$$F_{0.05}(1,2)=19$$

2.5 验证试验

精密称取与正交试验等量等比例药材,按最佳提取条件,加入8倍量60%乙醇提取3次,每次1.5小时。结果浸膏得率分别为21.98%,欧前胡素含量为1.03mg/g。可见,所筛选出来的工艺合理可行,稳定可靠,具有可操作性和重复性。

3 讨论

3.1 指标物质的选择

白芷具有散风除湿,通窍止痛功效。药理试验表明有解热、抗炎、镇痛、解痉、抗癌作用^[4]。近年来研究报道,白芷主要成分总香豆素具有明显的镇痛作用^[5],其中以欧前胡素含量最高,因此,本试验合理选择了欧前胡素为指标物质对黄蒿消炎颗粒的乙醇提取工艺进行了优化。

3.2 流动相的选择

在摸索流动相条件时,曾参考中国药典流动相,即甲醇:水(55:45),但出峰时间太

晚。故采用增大甲醇的比例，参照文献，选用了甲醇：水（65：35）^[6-7]，甲醇：水（62：38）^[8]及甲醇：水（70：30）进行试验，结果甲醇：水=70：30为流动相时，样品分离度好，峰形对称，且阴性无干扰。故选用甲醇：水=70：30为流动相。

3.3 样品处理

在进行样品处理挥发时，为了尽量避免有效成分随乙醇的挥发而损失，试验采用了低温挥发样品，保证了含量测定的准确性。

本实验采用正交设计的试验方法对黄蒿消炎颗粒的醇提工艺进行优化筛选，所建立的高效液相色谱法方法简便，结果准确可靠。通过对样品含量测定和验证试验表明确定的提取工艺科学可行，为以后该制剂的制备提供依据，也为白芷及其复方制剂含量测定提供参考。

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.
- [2] 邹文莉，马逾英，郭丁丁，等.白芷在中药复方制剂中的使用及质量控制[J].中成药，2007，29（9）：1350-1352.
- [3] 张志梅，翟志席，杨重军，等.白芷体内欧前胡素和异欧前胡素含量研究[J].中国中药杂志，2005，30（17）：1377-1388.
- [4] 张廷模.临床中药学[M].北京：中国中医药出版社，2004.
- [5] 王梦月，贾敏如，马逾英，等.白芷总香豆素的药理作用研究[J].时珍国医国药，2005，16（10）：954-956.
- [6] 曹艳霞，沈宇燕，田芸，等.元胡止痛缓释片中白芷提取工艺的研究[J].天津药学，2007，19（3）：12-14.
- [7] 李海燕，岑志芳，林玉明.中药新药复方天麻头风胶囊中白芷的含量测定研究[J].时珍国医国药，2006，17（6）：965-966.
- [8] 李果荣，陈筑蓉.鼻炎宁颗粒剂提取工艺研究[J].中国药房，2001，12（8）：463-464.