

酒舒颗粒的提取工艺研究

姜莉莉¹, 焦淑清^{2*}, 张楠楠², 田立华², 牛向伟^{1,3}

1. 承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000

2. 佳木斯大学药学院 黑龙江省生物药制剂重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154007

3. 河北省中药新辅料工程技术研究中心, 河北 承德 067000

摘要: 目的 确定酒舒颗粒超声提取的最佳工艺条件。方法 以总黄酮提取率为指标, 采用单因素试验和正交试验考察提取温度、提取时间、提取次数和料液比对酒舒颗粒超声提取工艺的影响。结果 最佳提取工艺条件为提取温度 70 ℃, 提取时间 1 h, 提取次数 2 次, 料液比 1:8。最佳提取工艺条件下酒舒颗粒中总黄酮提取率为 7.56%。结论 优选的提取工艺设计合理, 可作为酒舒颗粒提取生产工艺的参考。

关键词: 酒舒颗粒; 总黄酮; 提取工艺; 超声提取; 正交设计

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)08-1540-03

Study on extraction technology of Jiushu Granule

JIANG Li-li¹, JIAO Shu-qing², ZHANG Nan-nan², TIAN Li-hua², NIU Xiang-wei^{1,3}

1. Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengde 067000, China

2. Heilongjiang Province Key Laboratory of Biological Medicine Formulation, College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China

3. Engineering Research Center of Chinese Medicine New Accessories of Hebei Province, Chengde 067000, China

Key words: Jiushu Granule; total flavonoids; extraction technology; ultrasonic extraction; orthogonal design

酒舒颗粒是参照文献处方^[1]而制成的一种解酒制剂。本制剂能加速体内乙醇的排出, 消除因过度饮酒而造成的烦热、头昏等症状, 加速解酒进度。处方中的主药枳椇子、葛根是解酒方剂中常用药材, 二者含有的黄酮类物质被认为具有解酒醒酒、保肝功效的有效成分^[2-3]。根据处方组成、药材功效及理化性质, 本实验对制剂提取工艺进行了优化研究。

1 仪器与材料

RE—52A 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); KQ—500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); UV757CRT 紫外可见分光光度计 (上海玉田分析仪器公司)。

芦丁对照品购于中国药品生物制品检定所 (批号 100080-200707); 所用试剂均为分析纯。

药材枳椇子 (批号 091201)、葛根 (批号 121551-

200902)、山楂 (批号 121138-200905)、枸杞 (批号 121072-200404), 均购于承德颈复康医药有限公司, 经承德颈复康药业集团执业药师王春民总工程师鉴定, 符合《中国药典》2010 年版规定。

2 方法与结果

2.1 提取物中总黄酮的测定^[4]

2.1.1 对照品溶液的制备 芦丁对照品加热、干燥至恒定质量, 精密称取 5 mg, 用 75%乙醇溶解后移入 25 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 0.2 mg/mL 的对照品溶液, 备用。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称定按正交试验工艺提取的干膏 0.2 g, 用 75%乙醇溶解, 滤过, 将滤液移至 25 mL 量瓶内, 用 75%乙醇定容至刻度, 精密吸取 1.0 mL 置 100 mL 量瓶中, 用 75%乙醇稀释至刻度, 作为供试品溶液。

收稿日期: 2012-03-08

作者简介: 姜莉莉 (1984—), 女, 河北省承德人, 助理工程师, 学士学位, 从事药品质量管理工作。

Tel: 13403146571 E-mail: jianglili198402@126.com

*通讯作者 焦淑清 Tel: 13846180103 E-mail: Shuqingjiao60@163.com

网络出版时间: 2012-07-06 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120706.1713.005.html>

2.1.3 紫外吸收波长的选择 取对照品溶液 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加入 5% NaNO_2 溶液 0.5 mL,摇匀,放置 6 min,加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5 mL,摇匀,再放置 6 min,加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL,用 75%乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 15 min。于 400~600 nm 扫描,吸收图谱显示,芦丁对照品溶液的最大吸收峰在 500 nm 处,故将 500 nm 确定为样品总黄酮的测定波长。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加 5% NaNO_2 溶液 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1.0 mL,摇匀;放置 6 min,加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL,用 75%乙醇稀释至刻度,混匀,放置 15 min,在 500 nm 波长处,以相应试剂作空白,分别测吸光度(A)值。以 A 值为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程 $Y=0.948\ 9\ X+0.039\ 1$, $r=0.999\ 8$,线性范围 0.01~0.08 mg/mL。

2.1.5 精密度试验 取对照品溶液 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加入 5% NaNO_2 溶液 0.5 mL,摇匀,放置 6 min,加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5 mL,摇匀,再放置 6 min,加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL,用 75%乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 15 min,在 500 nm 波长处,以相应试剂作空白,连续测定 6 次,分别测 A 值,计算 A 值的 RSD 为 1.1%。

2.1.6 重复性试验 精密称定按最佳提取工艺提取的干膏 6 份,按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,依法测定,计算得总黄酮质量分数的 RSD 为 1.82%。

2.1.7 稳定性试验 取按最佳提取工艺提取的干膏,按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,分别于 8 h 内每隔 2 h 检测,测定 A 值,计算其 RSD 为 1.6%,结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 精密量取按最佳提取工艺提取的干膏 6 份,加入相同质量浓度的对照品溶液按供试品溶液的制备方法制备、测定,计算回收率,结果平均回收率为 100.06%,RSD 为 0.55% ($n=6$)。

2.1.9 样品中总黄酮的测定 取按“2.1.2”项方法制备供试品溶液 3 份。在 500 nm 波长下测定 A 值,将 A 值代入回归方程中,计算供试品中总黄酮的量。根据供试品中总黄酮的量,计算干浸膏中总黄酮的质量分数。

2.2 提取溶剂的选择

处方中枳椇子水提液能提高乙醇脱氢酶的活性,从而降低体内乙醇体积分数实现解酒目的^[5]。葛根水提液通过消除自由基和抗脂质过氧化途径而降低血液黏度,促进血液循环,使乙醇排泄加速,减少乙醇对肝脏及其他各系统的损坏,起到保肝健脑作用^[6]。处方中的山楂、枸杞富含多糖类物质,具有提高免疫力的作用,醉酒后人的免疫功能下降,补充多糖类物质可与解酒成分起协同作用。文献报道采用水提醇沉法制备提取液^[1],其不足是使处方药材中的多糖物质被沉淀除去,造成多糖丢失。而水提法具有成本低、易于工业化生产等优点,在解酒剂研究中广泛使用,故本实验采用水作为提取溶剂。

2.3 提取工艺

将枳椇子粉成粗粉^[4],葛根、山楂破碎,按处方比例分别称取枳椇子粉 25 g、葛根 25 g、山楂 10 g、枸杞 10 g,用水浸泡 1 h。在设定温度下超声(功率 500 W,频率 40 kHz)辅助提取一定时间、一定次数,合并提取液、抽滤,滤液离心后减压浓缩成稠膏,稠膏置真空干燥箱中干燥,得到干膏。称质量,计算干膏得率,测定干膏中总黄酮的质量分数^[4],计算总黄酮提取率。

$$\text{干膏得率} = W_{\mp} / W$$

$$\text{总黄酮质量分数} = W_0 / W_{\mp}$$

$$\text{总黄酮提取率} = \text{干膏得率} \times \text{总黄酮质量分数}$$

$W_{\mp}$ 为干浸膏质量, W 为药材总质量, W_0 为干浸膏中总黄酮质量

2.4 单因素试验

选取提取温度、物料比、提取时间及提取次数 4 个影响因素对总黄酮提取率进行单因素考察。

2.4.1 提取温度对总黄酮提取率的影响 固定料液比 1:6,提取时间 1 h,提取次数 2 次,分别考察提取温度 50、60、70 °C 对总黄酮提取率的影响。结果总黄酮提取率分别为 3.45%、4.30%、5.16%。

2.4.2 提取时间对总黄酮提取率的影响 固定提取温度 70 °C,料液比 1:6,提取次数 2 次,分别考察提取时间 0.5、1.0、1.5 h 对总黄酮提取率的影响。结果总黄酮提取率分别为 4.02%、5.96%、4.81%。

2.4.3 提取次数对总黄酮提取率的影响 固定提取温度 70 °C,料液比 1:6,提取时间 1 h,考察提取次数分别为 1、2、3 次时对总黄酮提取率的影响。结果总黄酮提取率分别为 4.16%、5.90%、3.50%。

2.4.4 料液比对总黄酮提取率的影响 固定提取温

度 70 ℃, 提取时间 1 h, 提取次数 2 次, 分别考察料液比 1:6、1:8、1:10 对总黄酮提取率的影响。结果总黄酮提取率分别为 4.16%、5.49%、4.49%。

2.5 正交试验

根据单因素试验结果, 以提取温度 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 和料液比 (D) 为考察因素, 以总黄酮提取率为考察指标, 设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 试验设计与结果见表 1, 方差分析见表 2。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果
Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A / ℃	B / h	C / 次	D	提取率 / %
1	50 (1)	0.5 (1)	1 (1)	1: 6 (1)	4.30
2	50 (1)	1.0 (2)	2 (2)	1: 8 (2)	5.26
3	50 (1)	1.5 (3)	3 (3)	1: 10 (3)	2.88
4	60 (2)	0.5 (1)	2 (2)	1: 10 (3)	3.46
5	60 (2)	1.0 (2)	3 (3)	1: 6 (1)	3.99
6	60 (2)	1.5 (3)	1 (1)	1: 8 (2)	4.41
7	70 (3)	0.5 (1)	3 (3)	1: 8 (2)	5.99
8	70 (3)	1.0 (2)	1 (1)	1: 10 (3)	6.66
9	70 (3)	1.5 (3)	2 (2)	1: 6 (1)	6.88
K_1	12.44	13.75	15.37	15.17	
K_2	11.86	15.91	15.60	15.66	
K_3	19.53	14.17	12.86	13.00	
R	7.67	2.16	2.74	2.66	

表 2 方差分析
Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	12.159	2	13.912	—
C	1.540	2	1.762	—
D	1.336	2	1.529	—
B (误差)	0.874	2		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$$

表 1 表明, 以总黄酮提取率为评价指标时, 4 个因素对提取效果影响顺序为 A (提取温度) > C (提取次数) > D (料液比) > B (提取时间), 最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2D_2$, 即料液比 1:8, 提取温度为 70 ℃, 提取次数为 2 次, 提取时间为 1 h。

方差分析表明, 提取温度 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 和料液比 (D) 4 因素对总黄酮提取率的影响均不显著。

2.6 验证试验

称取与正交试验等量的药材, 在最佳提取工艺条件下平行进行 3 组试验, 结果总黄酮提取率分别为 7.53%、7.59%、7.56%。结果表明, 指标性成分处于较高水平, 总黄酮提取率均高于正交试验中的最大值, 有效成分的量较高, 可减少颗粒剂服用剂量。经初步成型工艺验证, 符合颗粒剂要求, 表明工艺优选设计稳定合理。

3 讨论

通过单因素试验得到了各提取因素对提取浸膏中总黄酮量的影响规律。通过正交设计试验得到酒舒颗粒的最佳提取工艺为料液比 1:8, 提取温度 70 ℃, 提取时间 1 h, 提取次数 2 次。按最佳提取工艺条件进行验证试验 3 次, 总黄酮平均提取率为 7.56%, 优化的提取工艺设计合理, 有效成分测定指标较高, 具有重复性和重现性, 可作为酒舒颗粒提取生产工艺的参考。

参考文献

- [1] 章文炽, 夏培源. 枳椇饮解酒作用的实验观察 [J]. 中国医院药学杂志, 1994, 14(3): 137.
- [2] 王文彤, 张 娜, 郑 夺. 中药枳椇子药理作用研究 [J]. 天津药学, 2011, 23(1): 51-53.
- [3] 周吉银, 周世文. 葛根总黄酮及葛根素解酒的药理研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(9): 1280-1282.
- [4] 张 洪, 刘秀玲, 文 为. 优化枳椇子的提取工艺 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20(2): 121-122.
- [5] 嵇 扬, 陆 红, 杨 平. 枳椇子酒与枳椇子水提取液解酒毒作用比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(6): 481-483.
- [6] 尹秋霞, 陈英剑, 孙晓明, 等. 葛根、枳椇子对大鼠血中乙醇浓度变化的影响 [J]. 山东中医药大学学报, 2003, 27(4): 310-311.
- [7] 张会香, 杨世军, 张 静. 枳椇子总黄酮提取工艺及其解酒作用 [J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(3): 84-87.