

正交试验优选紫百止嗽胶囊中紫菀的提取工艺

王海宁, 李 松

贵州省食品药品检验所, 贵州 贵阳 550004

摘要: 目的 筛选紫百止嗽胶囊中紫菀的最佳提取工艺。方法 采用正交设计试验, 以紫菀酮提取率为指标, 考察溶剂体积分数、溶剂用量倍数、提取时间、提取次数 4 个因素对提取结果的影响。结果 最佳提取工艺为药材质量 8 倍量 80%乙醇、提取 3 次、每次 60 min。结论 该工艺所得浸膏得率和紫菀酮提取率均较高, 工艺稳定、重复性好, 可为紫百止嗽胶囊的生产提供参考。

关键词: 紫百止嗽胶囊; 紫菀; 正交试验; 紫菀酮; 提取工艺; 紫菀皂苷

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)14-2027-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.14.013

Optimization of extraction technology for *Asteris Radix et Rhizoma* in Zibai Zhisou Capsules with orthogonal test

WANG Hai-ning, LI Song

Guizhou Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550004, China

Abstract: **Objective** To optimize the extraction technology of *Asteris Radix et Rhizoma* in Zibai Zhisou Capsules. **Methods** Orthogonal test was carried out. The influences of concentration of solvent, the dosage of solvent, duration of extraction, and frequency of extraction on extraction results were investigated by using the content of shionons as index. **Results** The optimal extraction technique was to extract pueraria in 80% alcohol with 8 times the weight of herbal medicine for 3 times, with 60 min once. **Conclusion** High yield of extractum and high content of shionon are obtained with the present technology. The results with better repeatability are stable, which can provide the reference for the production of Zibai Zhisou Capsules.

Key words: Zibai Zhisou Capsules; *Asteris Radix et Rhizoma*; orthogonal test; shionone; extraction technology; astersaponin

紫百止嗽胶囊为贵州益铭中医药科学技术研究所与贵州健兴药业有限公司开发的新药, 处方为紫菀 300 g、百部 300 g、桔梗 300 g、白前 300 g、荆芥 300 g、陈皮 200 g、甘草 100 g 组成, 是一种纯中药制剂, 功能为宣降肺气、疏风止咳, 用于风邪犯肺、解表不彻之肺失宣降之证。

紫菀 *Asteris Radix et Rhizoma* 为方中君药, 主要含紫菀酮、槲皮素、无羁萜、表无羁萜和挥发油, 尚含紫菀皂苷, 水解得常春藤皂苷元等成分^[1], 而紫菀酮为活性成分^[2-4], 故本实验以紫菀酮为指标进行工艺优选。本实验以乙醇体积分数、乙醇用量、提取次数、提取时间 4 个因素为主要影响因素, 采用 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验设计进行优选^[5-7], 以有效成分紫菀酮为指标, 采用 HPLC 法测定紫菀

中紫菀酮的量。经筛选优化得到最佳醇提工艺, 以确定紫菀的醇提工艺。

1 仪器与材料

HH S1—4 型电热恒温水浴锅, 上海跃进医疗器械厂; JZ 型超声波清洗器, 上海杰理科技有限公司; FZ—102 型植物粉碎机, 武汉琴台医疗器械厂; AB104—S 型电子分析天平、LC—10A 型高效液相色谱仪, 日本岛津公司。

紫菀酮对照品, 定量测定用, 批号 0081-0340, 中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他化学试剂均为分析纯; 紫菀药材来源于贵州省药材公司, 经贵州省食品药品检验所中药室标本馆李杨副主任药师鉴定, 为菊科紫菀属植物紫菀 *Aster tataricus* L. f. 的干燥根和根茎。

收稿日期: 2014-03-11

作者简介: 王海宁, 硕士, 副主任药师, 研究方向为中药新药研发及检验。Tel: 13985137063 E-mail: gygzwhn@163.com

2 方法与结果

2.1 样品中紫菀酮的定量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 取紫菀酮对照品适量,精密称定,加甲醇制成含紫菀酮 57.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取滤液总量,摇匀,精密量取适量,浓缩至近干,用适量甲醇溶解,转入 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。

2.1.3 色谱条件与系统适用性试验^[8-10] 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-水(90:10)为流动相;检测波长为 200 nm;柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;进样量 10 μL 。理论板数按紫菀酮峰计算应不低于 3 500。

2.1.4 线性关系考察 精密取紫菀酮对照品溶液 1、1、2、3、2 mL,分别置 25、10、10、10、5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,照上述色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标(Y),紫菀酮进样量为横坐标(X)绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y=28\,937.68X+3\,133.08$, $r=0.999\,8$,在 22.96~229.60 ng 紫菀酮对照品的进样量与峰面积值呈良好的线性关系。

2.2 紫菀药材粉碎度对紫菀酮提取率的影响

取不同加工处理的紫菀药材(饮片、2~5 mm、20 目粗粉)3 份,每份 100 g,在相同条件下用 8 倍量的 80%乙醇回流提取 3 次,每次 1 h,滤过,准确量取滤液体积,测定紫菀酮的量,计算提取率(紫菀药材中紫菀酮质量分数为 1.18%)。结果紫菀酮提取率分别为 67.6%、69.7%、70.1%。结果表明,紫菀药材粉碎成小于 5 mm 时,提取率较高,和粉碎成粗粉无明显差异,从省工省时考虑,选择 2~5 mm 的粉碎度进行提取。

2.3 正交试验设计

2.3.1 因素水平设计 通过常规回流提取工艺中影响提取率的因素进行分析,在药材粒度、提取温度不变的情况下,以乙醇用量(倍数, A)、乙醇体积分数(B)、提取次数(C)、提取时间(D)4 因素为主要影响因素,进行 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,筛选最佳提取工艺。见表 1。

2.3.2 实验方法 取 180 g 紫菀药材,在平行条件下按照 $L_9(3^4)$ 正交表安排进行试验,每个条件重复 1 次试验,每个样品提取完毕,滤过,合并滤液,准确量取滤液量,取滤液适量测定紫菀酮的量,计算紫菀酮提取率。以紫菀酮提取率为考察指标进行工艺优选。结果见表 1。

提取率=提取样品中测得紫菀酮的总量/紫菀药材所含紫菀酮的总量

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果 ($n=2$)

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test ($n=2$)

试验号	A/ 倍	B/ %	C/ 次	D/ h	提取率 / %
1	6 (1)	70 (1)	1 (1)	0.5 (1)	45.70
2	6 (1)	80 (2)	2 (2)	1.0 (2)	60.95
3	6 (1)	90 (3)	3 (3)	1.5 (3)	59.98
4	8 (2)	70 (1)	2 (2)	1.5 (3)	56.83
5	8 (2)	80 (2)	3 (3)	0.5 (1)	68.06
6	8 (2)	90 (3)	1 (1)	1.0 (2)	57.06
7	10 (3)	70 (1)	3 (3)	1.0 (2)	61.80
8	10 (3)	80 (2)	1 (1)	1.5 (3)	66.04
9	10 (3)	90 (3)	2 (2)	0.5 (1)	56.76
K_1	166.63	164.33	168.80	170.52	
K_2	181.95	195.05	174.54	179.81	
K_3	184.60	173.80	189.84	182.85	
R	17.97	30.72	21.04	12.33	

2.3.3 结果分析 以紫菀酮为考察指标,由表 1 中极差 R 值大小显示,各因素作用主次为 $B>C>A>D$,表 2 方差分析^[11]结果表明,各因素均具有显著性($P<0.01$),最佳工艺条件为 $A_3B_2C_3D_3$,在影响较小的 A 因素及 D 因素中, A_2 与 A_3 、 D_2 与 D_3 极差较小,可选择 $A_2B_2C_3D_2$ 条件与最佳工艺条件进行比较,以验证筛选工艺,结果工艺条件为 $A_3B_2C_3D_3$ 、 $A_2B_2C_3D_2$ 的紫菀酮提取率分别为 69.96%、69.09% ($n=2$)。结果表明 2 种工艺的提取率差异较小(0.63%)。从省工省时、降低能耗考虑,选择 $A_2B_2C_3D_2$ 工艺进行生产,即药材加 8 倍量 80%乙醇加热回流提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液。

2.4 工艺验证

按最佳工艺 $A_2B_2C_3D_2$ 条件提取,测定紫菀酮

表 2 方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	显著性
A	62.90	2	174.72	$P<0.01$
B	164.89	2	458.06	$P<0.01$
C	78.39	2	217.72	$P<0.01$
D	27.52	2	76.44	$P<0.01$
E (误差)	1.62	9		

$F_{0.05}(2, 9)=4.20$ $F_{0.01}(2, 9)=8.02$

的量及总固体物, 计算收率。结果表明, 紫菀酮提取率为 69.18%, RSD 为 1.35%; 总固体物收率为 13.14%, RSD 为 2.75% (表 3); 说明工艺稳定可行。

表 3 工艺验证结果
Table 3 Results of verification

试验号	紫菀酮提取率 / %	总固体物 / %
1	68.98	12.80
2	70.64	13.52
3	69.05	13.10

3 讨论

紫百止嗽胶囊处方为紫菀、百部、桔梗、白前、荆芥、陈皮、甘草组成, 紫菀为方中君药, 其主要功效为温肺、下气、消痰、止咳, 治风寒咳嗽气喘, 虚劳咳吐血、喉痹、小便不利。其煎剂 1 g/kg 给麻醉兔灌服, 有显著的祛痰作用 (呼吸道分泌量测定法), 作用可持续 4 h 以上。大鼠 ig 粗提取物及紫菀素, 亦能使其气管分泌物明显增加。紫菀临床常用于润肺下气、消痰止咳, 用于痰多喘咳、新久咳嗽、劳嗽咳血。紫菀酮为紫菀中主要活性成分, 由于紫菀为方中主药, 所含成分复杂, 为保证有效成分充分提取, 采用高体积分数乙醇提取。

本实验考察了药材粉碎度对提取的影响, 取饮片、2~5 mm、20 目粗粉药材 3 份, 在相同条件下用 8 倍量的 80%乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h, 滤过, 准确量取滤液体积, 测定紫菀酮的量, 计算提取率, 结果三者均无明显差异, 从省工省时考虑, 选择 2~5 mm 的粉碎度进行提取。经过实验, 以乙

醇体积分数、乙醇用量、提取次数、提取时间 4 因素为主要影响因素, 采用 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验进行优选, 以有效成分紫菀酮为指标, 采用 HPLC 法测定紫菀中紫菀酮的量, 经筛选优化得到紫菀药材最佳醇提工艺。

参考文献

- [1] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [2] 肖培根. 新编中药志 (第二卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [3] 侯海燕, 陈立. 紫菀化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(3): 161-163.
- [4] 刘可越, 赵昱波, 刘海军, 等. 紫菀属植物化学成分与生物活性研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 276-278.
- [5] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [6] 陈礼明, 刘圣, 唐丽琴, 等. 正交试验优选黄连散中葛根等成分的提取工艺 [J]. 中国药房, 2006, 17(6): 415-417.
- [7] 毛秋兰, 何作明. 紫菀中紫菀酮提取工艺研究 [J]. 临床医学工程, 2009, 16(7): 102-104.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [9] 高文远, 张蓉. HPLC 法测定紫菀中紫菀酮含量 [J]. 中草药, 2003, 34(10): 953-954.
- [10] 张军, 于红宇, 蔡晓燕, 等. HPLC 法测定紫菀止嗽颗粒中紫菀酮的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(3): 197-199.
- [11] 吕圭源, 王一涛. 中药新产品开发学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.