

· 论 著 ·

急支平喘软胶囊组方药材的提取工艺研究

王曙东¹, 苏振乾², 王玉喜¹, 李 克¹

〔摘要〕 目的 研究急支平喘软胶囊组方药材的最佳提取工艺条件。方法 以黄芩苷及其同类成分含量和总浸出物含量作为指标,对处方中药材分别进行水溶液提取和醇溶液提取筛选,并以提取液量与药量液固比、提取时间、提取次数作为考察对象,以黄芩苷类的含量为考察指标进行 $L_9(3^4)$ 正交试验以优选最佳提取工艺参数。结果 用 70% 乙醇作为提取溶媒能较完全地提取有效成分。正交试验提示:用 12 倍量 70% 乙醇,提取两次,每次 2 h 为最佳提取工艺。结论 该工艺条件稳定,快速简便,重现性较好,适合用于指导大生产。

〔关键词〕 急支平喘软胶囊;木蝴蝶;没药;提取工艺;正交试验

〔中图分类号〕 R284.2 〔文献标志码〕 A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2013.05.015

Study on extraction process of Jizhi Pingchuan soft capsule

WANG Shu-dong¹, SU Zhen-qian², WANG Yu-xi¹, LI Ke¹. 1. Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 2. Nanjing Bioengineering and Medicine Co., Ltd., Nanjing, Jiangsu 210012, China

〔Abstract〕 Objective To optimize the extraction process of Jizhi Pingchuan soft capsule. Methods Using baicalin and its homologous compounds and total extract contents as indexes, water-extraction and ethanol-extraction processes were screened. Choosing the amount of solvent added, the extracting time, and the extracting frequencies as investigation targets, the test was designed according to $L_9(3^4)$ of orthogonal test and taking baicalin as the index to optimize the process parameters. Results With 70% ethanol as a extraction solvent can extract the effective components more fully. Orthogonal test indicated that the best condition of the extraction process was as follows: 12 times of 70% ethanol, extracting two times and every time 2 hours. Conclusions It is derived from screening that the process is stable, simple and repeatable, and suitable for the production amplification, and provide the possibility to future industrial applications.

〔Key words〕 Jizhi Pingchuan soft capsule; semen oroxyli; myrrha; extraction process; orthogonal test

急支平喘软胶囊是我院制剂科按中药六类新药研究的新型剂型,处方由木蝴蝶、没药等组成。针对成分特性,本实验采用水和乙醇两种溶媒,分别对木蝴蝶、没药进行了提取工艺的研究,以黄芩苷类的含量为考察指标进行了 $L_9(3^4)$ 正交试验,优选并确定了急支平喘软胶囊组方药材的提取工艺条件。

1 材料与方法

1.1 仪器 高效液相色谱仪包括: Waters 600E 高压泵、Waters 2996 二极管矩阵检测器、717 自动进样器、Waters Empower 色谱工作站均为美国 Waters 公司产品, KQ-250B 超声波清洗机为昆山市超声设备有限公司产品。

1.2 材料 木蝴蝶 (*Semen Oroxyli*) 为紫葳科木蝴蝶属植物木蝴蝶 [*Oroxylum indicum* (L.) Vent.] 的

成熟种子(购自南京市药材公司);没药为橄榄科没药树 (*Commiphora myrrha* Engl.) 或爱伦堡没药树 (*Balsamodendron ehrenbergianum* Berg.) 树胶 (*Myrrha*) (购自南京市药材公司)。对照品黄芩苷购自中国药品生物制品鉴定所;乙醇(市售药用级)。乙腈为色谱纯级(美国 Tedia 公司),实验用水为重蒸馏水。

1.3 方法

1.3.1 对照品溶液制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇,制成 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液。

1.3.2 样品制备 木蝴蝶提取样品制备:取木蝴蝶药材 2 份各 10 g 置圆底烧瓶中,分别加 200 ml 水和 200 ml 70% 乙醇,各回流提取 2 h,滤过,提取液分别用原溶剂定容到 200 ml,备用。没药提取样品制备:取没药药材 20 g 2 份,置圆底烧瓶中,分别加 200 ml 水和 200 ml 70% 的乙醇,回流提取 2 h,提取液分别用溶媒定容到 200 ml,备用。

1.3.3 样品测定 高效液相色谱法测定黄芩苷及其同类成分^[1-2]:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,0.2% 磷酸-乙腈溶液(76:24;V/V)为流动相,

作者单位: 1. 210002 江苏南京,南京军区南京总医院;
2. 210012 江苏南京,南京生物工程与医药科技发展有限公司

通讯作者: 李克, E-mail: liker1017@163.com

检测波长为 278 nm,进样量 10 μ l;理论板数以黄芩苷峰计算不低于 2000。黄芩苷进样量在 242.6 ~ 1212.8 μ g 范围内色谱峰面积与进样量线性关系良好,回归方程为 $y = 2850x - 36\ 200$ (y 为峰面积, x 为进样量),相关系数(r) = 0.9999。总浸出物含量测定:精确吸取提取液 10 ml,精确称重后水浴蒸干,于 105 $^{\circ}$ C 干燥 3 h,称重。

1.4 统计学处理 实验数据应用 SPSS 16.0 统计软件包进行数据分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 木蝴蝶提取溶剂的选择 木蝴蝶药材的主要化学成分为黄芩苷及其同类成分,本实验选用黄芩苷为控制指标,用高效液相色谱法测定黄芩苷及其同类成分。木蝴蝶不同提取溶剂中黄芩苷及其同类成分色谱图见图 1。图 1 中 B、C 显示:保留时间(t)为 5.9、11.2、12.1、19.1、21.1 和 25.9 min 的六个峰为醇提和水提液中共有峰。其中保留时间为 12.1 min 的峰为黄芩苷峰。3D 紫外吸收光谱显示,前三个峰($t = 5.9$ 、11.3 和 12.1 min)的紫外吸收光谱最大吸收完全一致;后三个峰($t = 19.0$ 、21.1 和 25.9 min)的最大吸收波长与前三个峰略有不同,但紫外吸收光谱相似,因此,它们可能均为黄酮类成分。对六个黄酮类成分色谱峰积分结果显示,乙醇提取体系黄酮类成分含量明显高于水提体系。总浸出物含量测定结果显示,木蝴蝶水提液总浸出物为 11.1%,醇提液总浸出物为 12.9%。以上结果提示,用 70% 乙醇作为木蝴蝶提取溶剂较为适宜。

2.2 没药提取溶剂的选择 由于没药中没有合适的可测成分,故以总浸出物含量作为考察指标。含量测定结果:水提 15.7%;醇提 20.2%。表明没药醇提液中总浸出物的含量高于水提液。

2.3 急支平喘软胶囊提取工艺正交试验^[3-4]
2.3.1 因素与水平 选择对急支平喘软胶囊提取工艺影响较大的 3 个主要因素,即提取液量与药量液固比(A)、提取时间(B)、提取次数(C)作为考察对象,以黄芩苷类的含量为考察指标,按四因素三水平设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,因素水平见表 1。

2.3.2 正交试验及方差分析 按处方称取木蝴蝶、没药各 20 g,共 9 份,分别按正交试验设计进行提取试验,结果见表 2。以测定黄芩苷类成分含量为考察指标进行方差分析,结果见表 3。

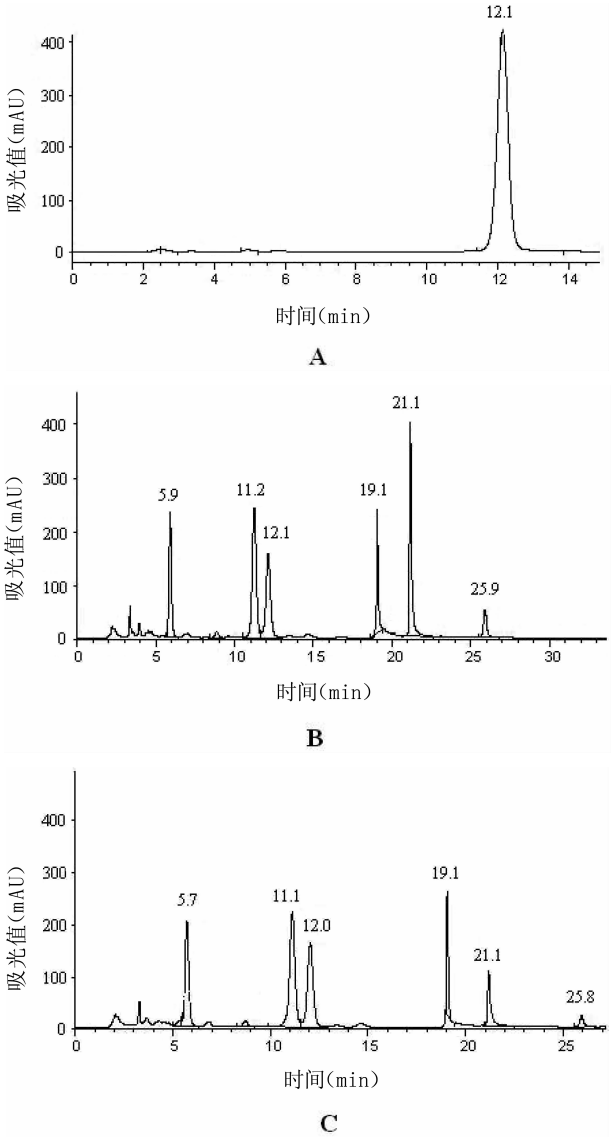


图 1 木蝴蝶不同提取溶剂中黄芩苷及其同类成分色谱图
A:黄芩苷对照品色谱图;B:乙醇提取液色谱图;C:水煎提取液色谱图

表 1 因素与水平

水平	因素		
	A 液固比(倍)	B 提取时间(h)	C 提取次数
1	8	1.0	1
2	12	1.5	2
3	16	2.0	3

2.4 工艺验证试验 由于优选所得到的工艺未包括在正交设计表的 9 次试验中,因此对优选工艺条件进行验证试验。即用同一批药材,按 $A_2B_3C_2$ 进行试验,并测定其中黄芩苷成分和固溶物含量,结果见表 4。

表 2 正交试验设计及结果

试验号	加液量	提取时间	提取次数	空白	黄芩苷类含量 (%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.73
2	1	2	2	2	1.74
3	1	3	3	3	2.40
4	2	1	2	3	1.53
5	2	2	3	1	2.21
6	2	3	1	2	1.28
7	3	1	3	2	2.08
8	3	2	1	3	0.96
9	3	3	2	1	2.36
K1	4.87	4.34	2.97	5.30	
K2	5.02	4.91	5.63	5.10	
K3	5.40	6.04	6.69	4.89	
R	0.53	1.70	3.72	0.41	

表 3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值
A	0.0498	2	0.0249	1.7756
B	0.4991	2	0.2495	17.8105
C	2.4486	2	1.2243	87.3814*
误差 e	0.0280	2	0.0140	

注:与 A,B 相比,* $P<0.05$ [$F_{0.05}(2,2)=19.0$]

表 4 优选工艺验证试验结果

验证序号	总峰面积	黄芩苷(%)	固溶物(%)
1	26960.0	1.07	14.2
2	27633.9	1.31	15.8
3	27176.3	1.07	14.5

3 讨论

急支平喘软胶囊临床用于治疗急性支气管炎和慢性支气管炎急性发作,疗效显著。木蝴蝶始载于《滇南本草》,原名千张纸,本品性凉味苦,入肺、肝、胃经。有清肺、利咽、止咳、舒肝、和胃以及降低血液中低密度脂蛋白胆固醇作用之功效^[5,6]。现代研究

证明其所含黄酮类成分,特别是黄芩苷,是抗菌消炎、抗氧化损伤的有效成分^[7-8]。没药具有活血止痛、消肿生肌、抗肿瘤等功效^[5,9],其主要成分为树脂,其中树脂约 25%~35%,树胶约 57%~65%^[10]。由 R 值直观分析(表 2)及方差分析结果(表 3)可知,各因素对提取结果影响的大小顺序为 C>B>A,其中 C 因素与 A,B 两因素相比有显著差异($P<0.05$),A 因素对提取没有显著影响。从节约成本考虑,选择 A₂ 为宜;C 因素中,2,3 水平间没有明显差异,从生产实际出发,试验选择 C₂。最后确定工艺为 A₂B₃C₂。

验证试验结果显示,本文优选工艺条件稳定,快速简便,重现性较好。适合于指导急支平喘软胶囊组方药材提取工艺的大生产实践。

【参考文献】

[1] 曹阳阳,晏仁义,杨 滨,等. HPLC 测定广西木蝴蝶中木蝴蝶苷 B 和黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):82-84.

[2] 潘鹏飞,孙 菲,李延雪. HPLC 同时测定黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量[J]. 中国药师,2012,15(1):75-77.

[3] 曾 明,赵维娟,甘 静,等. 舒通胶囊提取工艺的优选[J]. 东南国防医药,2011,13(2):133-134;137.

[4] 谢彦兵,肖红兵. 正交设计法对大豆中提取异黄酮的工艺研究[J]. 东南国防医药,2011,13(1):54-56.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 第一部. 北京:中国医药科技出版社,2010;60,173.

[6] 赵献敏,王建华,杜彩霞,等. 中药木蝴蝶提取物对 LDL-C 作用的研究[J]. 光明中医,2012,27(5):884-885.

[7] 殷文光,李曼玲,唐 琛. 木蝴蝶的研究进展[J]. 中国中药杂志,2007,32(19):1965-1966.

[8] 王 锐,何 崑,袁晓春,等. 木蝴蝶总黄酮的抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(23):102-105.

[9] 戴 一,曹殿洁. 没药、乳香有效成分抗肿瘤活性及机制的研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2012,23(4):490-493.

[10] 宋立人,洪 恂,丁诸亮,等. 现代中药学大辞典[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:1097.

(收稿日期:2013-03-03;修回日期:2013-05-24)

(本文编辑:张仲书; 英文编辑:王建东)