

正交试验法优选心舒颗粒的提取工艺

罗新玉¹, 宋平平², 袁林³, 陈亚宁⁴ (1. 当阳市中医院, 湖北 当阳 444100; 2. 宜昌市中心医院, 湖北 宜昌 443000; 3. 湖北民族学院民大医院, 湖北 恩施 445000; 4. 深圳市佳泰药业股份有限公司, 广东 深圳 518103)

[摘要] 目的 优选心舒颗粒中的醇溶性成分的提取工艺。方法 以干膏得率、丹参酮ⅡA含量为评价指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验。考察提取时间、提取次数、乙醇浓度、乙醇用量对干膏得率和丹参酮ⅡA含量的影响, 以多指标综合评价法确定最佳工艺。结果 确定加生药材10倍量的90%乙醇, 回流1.5 h, 提取2次为最佳方案。结论 最佳工艺基本稳定可行。

[关键词] 心舒颗粒; 丹参酮ⅡA; 正交实验; 提取工艺

[中图分类号] R931.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)05-0371-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.05.015

Optimal selection of abstraction procedure for Xinshu Granula by orthogonal test

LUO Xin-yu¹, SONG Ping-ping², YUAN Lin³, CHEN Ya-ning⁴ (1. Danyang Hospital of TCM, Danyang 443000, China; 2. Yichang Central Hospital, Yichang 443000, China; 3. Minda Hospital of Hubei University For Nationalities, Shi'en 445000, China; 4. Shenzhen Jati pharmaceutical Co. Ltd, Shenzheng 518103, China)

[Abstract] **Objective** To study the alcohol-soluble component abstraction procedure of Xinshu Granula. **Methods** The optional extraction process was selected for the yields of extracts & Tanshinone II A by using $L_9(3^4)$ orthogonal design. The effects of alcohol concentration, alcohol amount, reflux time and times of reflux were observed. **Results** The optimal extraction process was determined by adding 90% alcohol, 10 times the amount of Chinese medicinal materials, reflux extracting 2 times, 1.5 hours per time. **Conclusions** The selected processing method was stable and feasible.

[Key words] Xinshu Granula; tanshinone II A; orthogonal test; abstraction procedure

心舒颗粒由丹参、川芎等十味中药组成, 具有行气活血, 解郁化痰, 养血通脉之功效。临床主要用于冠心病、动脉硬化等心脑血管疾病。处方中丹参为君药, 而丹参中丹参酮ⅡA为其主要成分。为了优选其提取工艺, 保证临床疗效, 本实验以干膏得率和丹参酮ⅡA作为考察指标, 采用正交试验设计对其醇提工艺进行研究。

1 仪器与试剂

实验中药材均购于亳州市汇仁堂药业有限责任公司, 经鉴定为中国药典(2010版)收录的正品; 岛津LC-10ATVP高效液相色谱仪; 丹参酮ⅡA对照品购于中国药品生物制品检定所(批号: 110736-20052, 供含测用); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水。其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交实验设计 根据处方中药味的理化性质, 丹参、川芎等四味药材采用乙醇回流提取。有参考文献^[1-2]对影响提取效果的提取时间、提取次数、乙醇浓度及乙醇用量进行优选, 以干膏得率、丹参酮ⅡA含量为评价指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验, 因素水平详见表1。

表1 醇提工艺因素水平表

水平	因素			
	A 提取时间 (h)	B 提取次数 (次)	C 乙醇浓度 (%)	D 乙醇用量 (倍)
1	1	1	70	6
2	1.5	2	80	8
3	2	3	90	10

2.2 丹参酮ⅡA的测定

2.2.1 色谱条件 Phenomenex-luna 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 甲醇-水(75:25)为流动相,

[作者简介] 罗新玉(1977-), 女, 大专, 主管药师。Tel: (0717)3224465, E-mail: 384376488@qq.com.

[通讯作者] 陈亚宁。E-mail: Yaningchen@126.com.

流速:1.0 ml/min,检测波长为 270 nm,理论塔板数按丹参酮 II A 峰计算不低于 2 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II A 对照品适量加甲醇溶解,制成 20 μg/ml 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 按正交试验表中确定的试验条件回流提取,将各试验组制得的醇提液滤过,合并滤液,回收乙醇至无醇味,记录浸膏量。精密称取浸膏约 1 g,置锥形瓶中,精密加入甲醇 50

ml,称定重量,回流提取 30 min,放冷,补重,摇匀,滤过,即得。

2.2.4 测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液 10 μl,注入高效液相色谱仪,测定即得。

2.2.5 阴性对照试验 按处方比例称取药材,同供试品溶液的制备方法制成不含丹参的阴性对照溶液。分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μl 进样,按“2.2.1”项色谱条件测定,结果阴性无干扰。结果见图 1。

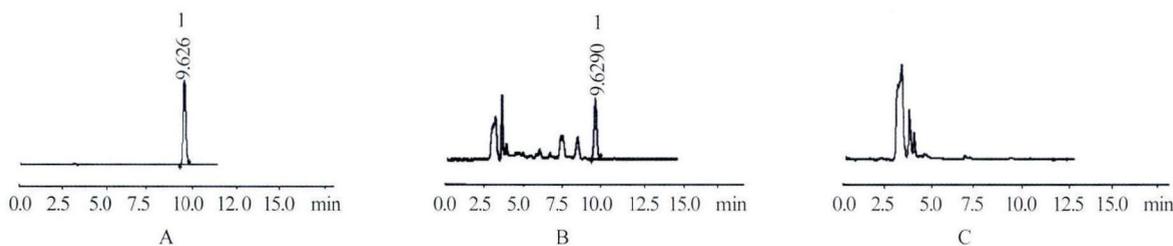


图 1 高效液相色谱图

A-对照品;B-供试品;C-阴性对照品;1-丹参酮 II A

2.2.6 线性关系考察 精密称取丹参酮 II A 对照品 10.6 mg,置 25 ml 棕色量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取对照品溶液 0.2、0.4、0.6、1.0、2.0 ml 置 10 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.2.1”项色谱条件测定峰面积。以对照品进样浓度为横坐标(X)与其相应的峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,求得回归方程为 $Y = 269\ 668X - 201\ 576$, $r = 0.999\ 2$,结果表明丹参酮 II A 浓度在 8.48 ~ 84.8 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.7 精密密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μl,连续进样 6 次,测定峰面积。结果丹参酮 II A 峰面积的 RSD 为 1.86%,表明精密密度良好。

2.2.8 重复性考察 取正交试验中的 3 号样品 6 份,按供试品溶液制备方法操作,并进行测定,丹参酮 II A 的平均含量为 2.66 mg/g,RSD 为 1.93%,表明本方法的重复性良好。

2.2.9 稳定性考察 精密吸取同一份供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样 10 μl,丹参酮 II A 峰面积的 RSD 为 1.92%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.10 加样回收试验 取已知含量的同一样品(3 号样品,丹参酮 II A 含量为 2.66 mg/g)约 0.5 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入丹参酮 II A 对照品溶液(浓度为 0.424 mg/ml)3 ml,按溶液制备方法制备溶液并测定,计算回收率。结果列于表 2。

表 2 丹参酮 II A 回收率测定结果 (n = 6)

序号	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.508 6	1.352 9	1.272	2.615 3	99.25		
2	0.493 8	1.313 5	1.272	2.564 8	98.37		
3	0.489 5	1.302 1	1.272	2.588 2	101.11	99.82	1.84
4	0.502 5	1.336 7	1.272	2.573 7	97.25		
5	0.499 2	1.327 9	1.272	2.609 8	100.78		
6	0.511 3	1.360 1	1.272	2.659 2	102.13		

2.3 干膏得率的测定 取“2.2.3”项下浸膏约 2 g,水浴蒸干后,于 105 ℃干燥 5 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定重量,再于 105 ℃干燥 1 h,冷却称重,至两次称重的差异不超过 5 mg 为止,记录

干膏称重,并计算干膏得率。

2.4 结果 依次测得每组的干膏得率及每组浸膏中丹参酮 II A 含量(以 g 药材量计),实验结果及直观分析详见表 3。
(下转第 400 页)

础。笔者通过几年来的教学实践证明药学本科的有机化学理论和实验教学需要结合专业特点,选择合适的授课内容,多种教学方法灵活使用,激发学生学习兴趣,同时引入开放式教学和鼓励学生课外拓展知识面。

【参考文献】

[1] 相 燕. 有机化学教学与药学的联系[J]. 中国科技信息, 2005, 16: 215.
 [2] 王 希, 陈优生, 邱蔚芬. 有机化学教学方法探讨[J]. 广东

化工 2006, 35(7): 114.

[3] 朱小康, 李 琼, 袁吕江. 本科药物合成实验教学改革探讨[J]. 西南师范大学学报:自然科学版, 2010, 35(6): 236.
 [4] 卢一卉. “化学实验教学研究”课程改革初探[J]. 西南师范大学学报;自然科学版, 2009, 34(2): 197.
 [5] 赵大伟, 王佩华, 孙红梅, 等. 制药工程专业药物化学实验与有机化学实验教学存在问题与课程整合探讨[J]. 中国科技信息, 2010, 13: 428.

[收稿日期] 2012-09-02

[修回日期] 2012-10-30

(上接第 372 页)

表 3 醇提工艺正交试验结果

试验号	因素				干膏得率 (%) Y1	丹参酮 II A 含量 (mg/g) Y2	综合评分 Y
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	10.11	1.76	63.43
2	1	2	2	2	14.93	2.01	75.96
3	1	3	3	3	13.17	2.66	93.68
4	2	1	2	3	17.38	2.34	88.44
5	2	2	3	1	16.99	2.44	91.03
6	2	3	1	2	16.11	1.95	75.39
7	3	1	3	2	15.33	2.41	88.41
8	3	2	1	3	19.25	2.07	82.26
9	3	3	2	1	10.77	2.36	82.17
K1/3	77.690	80.093	73.693	78.877			
K2/3	84.953	83.083	82.190	79.920			
K3/3	84.280	83.747	91.040	88.127			
R	7.263	3.654	17.347	9.250			

注:综合评分 Y = Y1/19.25 × 20 + Y2/2.66 × 80

对上述实验结果进行方差分析,结果详见表 4。

表 4 综合评分方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	F 值比	显著性
A	96.637	2	4.252	
B	22.727	2	1.000	
C	451.423	2	19.863	P < 0.05
D	154.000	2	6.776	
误差	22.73			

注: $F_{0.05} = 19, F_{0.01} = 99$

由表 3 可知 4 个因素极差值 C > D > A > B, 乙醇浓度对提取工艺影响最大。由表 4 可知, C 因素乙醇浓度对实验结果有显著性影响, A、B、D 因素无显著性影响。因而综合分析得最佳工艺为 A₂B₂C₃D₃, 即 10 倍量的 90% 乙醇加热回流提取 2 次, 每次 1.5 min。

2.5 验证实验 采用优选的醇提工艺, 进行 3 次重复试验, 干膏得率分别为 19.09%、18.78%、19.53%, RSD = 1.96%; 丹参酮 II A 含量分别为

2.71、2.63、2.60 mg/g, RSD = 2.15%。验证结果表明本工艺稳定可行。

3 讨论

中药复方制剂成分复杂, 采用单一指标考察工艺有一定的局限性。本试验以丹参酮 II A 含量和干膏得率为指标进行考察, 采用综合评分分析, 优选出的提取工艺更具有科学性和合理性, 对生产有着更好的指导意义。

【参考文献】

[1] 李红卫, 荆晓红, 骆 勤, 等. 正交试验法优选乳病消片醇提工艺条件[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1395.
 [2] 范 彬, 石晓峰, 沈 薇, 等. 安乳颗粒中丹参的乙醇提取试验研究[J]. 中国药事, 2010, 24(9): 744.

[收稿日期] 2012-07-10

[修回日期] 2012-11-18