

正交试验优选芩榆烧伤凝胶中黄芩、关黄柏、地榆的提取工艺^Δ

康雨彤^{1*}, 贺金华¹, 毛艳¹, 戎晓娟¹, 蔡晓翠¹, 李维强² (1.新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004; 2.解放军69220部队医院药剂科, 新疆库车 842000)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2532-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.13

摘要 目的: 优选芩榆烧伤凝胶中黄芩、关黄柏、地榆的提取工艺。方法: 以乙醇体积分数、乙醇用量和渗漉速度为考察因素, 以浸膏得率和黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀质量分数的综合评分为指标, 采用正交试验优选黄芩、关黄柏的提取工艺; 选取相同的考察因素, 以没食子酸质量分数和浸膏得率的综合评分为指标, 采用正交试验优选地榆提取工艺。结果: 最佳提取工艺分别为黄芩、关黄柏用40倍量70%乙醇, 以4 ml/min的流速渗漉; 地榆用30倍量5%乙醇, 以3 ml/min的流速渗漉。结论: 优选的提取工艺合理、可行, 可用于芩榆烧伤凝胶中黄芩、关黄柏、地榆的提取。

关键词 芩榆烧伤凝胶; 提取工艺; 正交试验; 黄芩; 关黄柏; 地榆

Optimization of Extraction Process for *Scutellaria baicalensis*, *Phellodendron amurense* and *Sanguisorba officinalis* in Qinyu Burns Gel by Orthogonal Test

KANG Yu-tong¹, HE Jin-hua¹, MAO Yan¹, RONG Xiao-juan¹, CAI Xiao-cui¹, LI Wei-qiang² (1.Xinjiang Institute of Material Medica, Urumqi 830004, China; 2.Dept. of Pharmacy, No. 69220 Military Hospital of PLA, Xinjiang Kuche 842000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize extraction technology of *Scutellaria baicalensis*, *Phellodendron amurense* and *Sanguisorba officinalis* in Qinyu burns gel. METHODS: The extraction technology of *S. baicalensis* and *P. amurense* were optimized by orthogonal design with the concentration and amount of ethanol and percolation speed as factors taking extract yield and the contents of baicalin, berberine hydrochloride and palmatine chloride as index. The extraction technology of *S. officinalis* was optimized by orthogonal design with same factors using the content of gallic acid and extract yield as index. RESULTS: The extraction process was as follows: *S. baicalensis* and *P. amurense* was extracted with 40-fold 70% ethanol at the percolation speed of 4 ml/min; *S. officinalis* was extracted with 30-fold 5% ethanol at the percolation speed of 3 ml/min. CONCLUSIONS: Optimized extraction process is reasonable and feasible, and it can be used for the extraction of *S. baicalensis*, *P. amurense* and *S. officinalis* in Qinyu burns gel.

KEY WORDS Qinyu burns gel; Extraction process; Orthogonal test; *Scutellaria baicalensis*; *Phellodendron amurense*; *Sanguisorba officinalis*

芩榆烧伤凝胶是在芩榆烧伤液的研究基础上, 针对烧伤液易产生皮肤刺激、作用于病灶部位的药物浓度较低会制约其疗效等问题, 结合凝胶剂易于涂布使用、局部给药后易吸

收、不污染衣物、稳定性较好等特点, 进一步研发的治疗烧、烫伤的中药制剂^[1-2]。处方中黄芩具有清热、解毒、止血的功效, 在临床上主要用于抗菌消炎和抗感染^[3]; 关黄柏具有清热燥

- [4] 聂晓玉, 王雅亮. 丹皮酚的提取分离工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(4): 225.
- [5] 王立, 侯世祥. 牡丹皮药材的最适提取工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 569.
- [6] 李利红, 张晓静. 正交试验法优选丹皮酚提取工艺[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(14): 5 707.
- [7] 狄留庆, 谢辉. 牡丹皮中丹皮酚提取方法及工艺参数的优化[J]. 中药材, 1998, 21(1): 34.
- [8] 王立红, 周丽莉. 超临界CO₂萃取徐长卿中丹皮酚的工艺[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(1): 53.
- [9] 王留兴. 牡丹皮乙醇提取工艺研究[J]. 长春中医药大学学报, 2008, 24(1): 35.
- [10] 张晓东, 唐进法, 李学林. 不同煎煮时间牡丹皮汤液中丹皮酚和芍药苷含量变化分析[J]. 中医研究, 2009, 22(6): 18.
- [11] 吴铁, 崔燎, 于琼. 由丹参、牡丹皮组成的双丹制剂防治骨质疏松症的新用途[P]. 中国专利: CN101032556, 2007-09-12.
- [12] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 401.
- [13] 王森, 朱卫丰, 欧水平, 等. 丹皮酚理化性质及体外经皮渗透性的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(2): 215.
- (收稿日期: 2012-07-15 修回日期: 2012-09-02)

^Δ 基金项目: 新疆维吾尔自治区科技计划项目(No.201110105)

* 助理研究员, 硕士。研究方向: 中药制剂与质量标准。电话: 0991-2326572。E-mail: 526749931@qq.com

湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效,临床应用十分广泛^[4];地榆具有凉血止血、解毒敛疮的功效,临床用于治疗水火烫伤、肿痛疮毒等病症^[5]。根据处方的功能主治和药材成分的性质,笔者采用正交试验,以浸膏得率和有效成分的质量分数为指标,对岑榆烧伤凝胶中黄芩、关黄柏和地榆的提取工艺进行优选。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010C型高效液相色谱(HPLC)仪(日本岛津公司);BS110S型电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药材

黄芩、关黄柏、地榆药材均购自新疆奇康哈博维药有限公司,经新疆维吾尔自治区药物研究所何江副研究员鉴定均符合2010年版《中国药典》(一部)规定。

1.3 试剂

没食子酸(批号:110831-200803)、黄芩苷(批号:110715-201016)、盐酸小檗碱(批号:110723-200907)、盐酸巴马汀(批号:110713-200911)对照品,均为供含量测定用,购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,乙醇为药用级,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷、盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量测定^[6-11]

2.1.1 黄芩苷的色谱条件 色谱柱:Cosmosil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(含0.05%磷酸)-0.05 mol/L磷酸二氢钾水溶液(20:80, V/V);检测波长:280 nm;流速:1 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.1.2 盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的色谱条件 色谱柱:Cosmosil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(含0.05%磷酸)-0.05 mol/L磷酸二氢钾水溶液(28:72, V/V);检测波长:345 nm;流速:1 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.1.3 黄芩苷对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含60 μg的溶液,即得。

2.1.4 混合对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱和盐酸巴马汀对照品各适量,精密称定,加60%乙醇制成每1 ml分别含两种成分各50 μg的混合溶液,即得。

2.1.5 供试品溶液的制备 按处方中黄芩和关黄柏药材的配比,准确称取9份药材最粗粉,按正交试验安排,浸泡12 h后进行渗漉,合并渗漉液并定容至1 000 ml量瓶中。精密移取上述溶液各1 ml,置25 ml量瓶中,用70%乙醇定容,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.1.6 样品含量测定 分别精密吸取对照品或混合对照品和供试品溶液10 μl,分别按“2.1.1”“2.1.2”项下色谱条件注入液相色谱仪测定,照外标一点法计算黄芩苷、盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的质量分数。

2.2 浸膏得率的测定

精密量取供试品溶液50 ml,平行3份,置已干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干,于105 ℃干燥3 h,置干燥器中冷却30 min,迅速精密称定质量。按下式计算浸膏得率:浸膏得率=干膏质量×稀释倍数/药材质量×100%。

2.3 正交试验优选黄芩、关黄柏提取工艺

2.3.1 试验设计与结果 结合预试验结果,选取乙醇体积分数(A)、乙醇用量(B)和渗漉速度(C)为考察因素,以黄芩苷、盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的质量分数及浸膏得率的综合评分

为指标,采用L₉(3⁴)正交试验表进行试验。综合评分=浸膏得率/浸膏得率最高值×20+黄芩苷质量分数/黄芩苷质量分数最高值×40+盐酸小檗碱质量分数/盐酸小檗碱质量分数最高值×20+盐酸巴马汀质量分数/盐酸巴马汀质量分数最高值×20。因素与水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, 倍	C, ml/min
1	50	30	2
2	60	35	3
3	70	40	4

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(误差)	黄芩苷质量分数, %	盐酸小檗碱质量分数, %	盐酸巴马汀质量分数, %	浸膏得率, %	综合评分
1	1	1	1	1	1.78	0.68	0.50	31.06	57.07
2	1	2	2	2	1.72	0.67	0.51	32.76	57.67
3	1	3	3	3	1.78	0.73	0.50	33.07	58.91
4	2	1	2	3	6.84	0.90	0.50	32.54	82.76
5	2	2	3	1	6.70	0.91	0.53	33.08	83.74
6	2	3	1	2	6.95	0.95	0.51	32.27	84.45
7	3	1	3	2	9.44	1.04	0.52	32.72	96.89
8	3	2	1	3	9.16	1.07	0.53	33.61	97.19
9	3	3	2	1	9.62	1.11	0.51	32.28	98.39
K ₁	57.88	78.91	79.57	79.73					
K ₂	83.65	79.53	79.60	79.67					
K ₃	97.49	80.58	79.84	79.62					
R	39.60	1.68	0.28	0.12					

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	2 424.15	2	1 212.08	125 243.36	<0.01
B	4.31	2	2.16	222.49	<0.01
C	0.14	2	0.07	7.00	
D(误差)	0.02	2	0.01	1.00	

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$; $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$; $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

由表2、表3可知,各因素对工艺影响程度大小依次为A>B>C,且乙醇体积分数和乙醇用量对工艺有极显著性影响($P<0.01$)。从节省时间考虑,最佳提取工艺为A₃B₃C₃,即乙醇体积分数为70%,乙醇用量为40倍,渗漉速度为4 ml/min。

2.3.2 工艺验证试验 按处方比例称取黄芩和关黄柏药材最粗粉3份,照上述优选的工艺进行提取,并计算黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀质量分数和浸膏得率以及综合评分。结果,各指标与正交试验结果最高值相当,表明优选的黄芩、关黄柏的提取工艺合理、可行。工艺验证试验结果见表4。

表4 工艺验证试验结果

Tab 4 Results of technology validation

批次	黄芩苷质量分数, %	盐酸小檗碱质量分数, %	盐酸巴马汀质量分数, %	浸膏得率, %	综合评分
1	9.17	1.06	0.57	31.89	99.28
2	9.16	1.07	0.57	32.24	99.64
3	9.20	1.08	0.56	32.15	99.59

2.4 没食子酸的含量测定^[6, 12-15]

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5

μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸水溶液(2:98, V/V);检测波长:272 nm;流速:1 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.4.2 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品适量,精密称定,加水制成每1 ml含30 μg的溶液,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密称取地榆药材粗粉适量,共9份,按正交试验设计,浸泡72 h后进行渗漉,合并渗漉液并定容至500 ml量瓶中,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.4.4 样品含量测定 分别精密吸取对照品和供试品溶液各10 μl,按“2.4.1”项下色谱条件注入液相色谱仪测定,照外标一点法计算没食子酸的质量分数。

2.5 正交试验优选地榆提取工艺

2.5.1 试验设计与结果 结合预试验结果,选取乙醇体积分数(A)、乙醇用量(B)和渗漉速度(C)为考察因素,以没食子酸质量分数和浸膏得率的综合评分为指标,采用L₉(3⁴)正交试验表进行试验。综合评分=浸膏得率/浸膏得率最高值×20+没食子酸质量分数/没食子酸质量分数最高值×80。因素与水平见表5;正交试验结果见表6;方差分析结果见表7。

表5 因素与水平

Tab 5 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, 倍	C, ml/min
1	0	25	2
2	5	30	3
3	10	35	4

表6 正交试验结果

Tab 6 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(误差)	没食子酸质量分数, %	浸膏得率, %	综合评分
1	1	1	1	1	1.35	29.99	88.14
2	1	2	2	2	1.45	31.48	94.53
3	1	3	3	3	1.35	32.74	89.76
4	2	1	2	3	1.50	34.30	98.85
5	2	2	3	1	1.52	33.76	99.72
6	2	3	1	2	1.51	32.51	98.51
7	3	1	3	2	1.42	32.90	93.97
8	3	2	1	3	1.45	34.18	96.14
9	3	3	2	1	1.49	34.61	98.50
K ₁	90.81	93.66	94.27	95.45			
K ₂	99.03	96.80	97.29	95.67			
K ₃	96.20	95.59	94.48	94.92			
R	8.22	3.14	3.03	0.76			

表7 方差分析结果

Tab 7 Results of analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	104.60	2	52.3	115.35	<0.01
B	15.09	2	7.55	16.64	
C	17.12	2	8.56	18.88	
D(误差)	0.91	2	0.46	1.00	

注: F_{0.05}(2, 2)=19.00; F_{0.01}(2, 2)=99.00

note: F_{0.05}(2, 2)=19.00; F_{0.01}(2, 2)=99.00

由表6、表7可知,各因素对工艺的影响程度大小依次为A>B>C,乙醇体积分数对工艺有极显著性影响(P<0.01)。最佳提取工艺为A₂B₂C₂,即乙醇体积分数为5%,乙醇用量为30倍,渗漉速度为3 ml/min。

2.5.2 工艺验证试验 精密称取地榆药材粗粉适量,共3份,按上述优选工艺进行提取,并计算没食子酸质量分数和浸膏

得率以及综合评分。结果,各指标均与正交试验最高值相当,表明优选的地榆提取工艺合理、可行。工艺验证试验结果见表8。

表8 工艺验证试验结果

Tab 8 Results of technology validation

批次	没食子酸质量分数, %	浸膏得率, %	综合评分
1	1.67	34.38	98.34
2	1.66	34.81	98.12
3	1.70	34.53	98.84

3 讨论

本研究是在解放军69220部队医院自制的用于治疗烧、烫伤的芩榆烧伤液的基础上开发的新剂型。凝胶剂是一种适用于中药外用的理想剂型,药物与能形成大分子网络体系的辅料混合制成半流体制剂,与黏膜有良好的偶合和水合作用,可较长时间与作用部位紧密黏附,而且有较好的生物相容性,无油腻感,有利于药物释放,毒副作用小,故患者易于接受^[1-2]。

根据各药材主要活性成分的性质及查阅文献资料,笔者曾分别用水和60%乙醇为提取溶剂,进行黄芩、关黄柏和地榆混合提取和各药材单独提取工艺的研究。结果,采用水提取时,混合和单独提取地榆药材中没食子酸的质量分数分别为1.30%和1.33%,未检测出黄芩和关黄柏药材在两种提取方式下主成分的质量分数;采用60%乙醇渗漉时,未检测出地榆药材中主成分的质量分数,混合和单独提取方式下黄芩药材中黄芩苷的质量分数分别为9.78%和9.85%,关黄柏药材中盐酸小檗碱的质量分数分别为1.00%和1.06%,盐酸巴马汀的质量分数分别为0.54%和0.57%。故在正交试验中选择黄芩和关黄柏药材用50%、60%、70%乙醇提取,而地榆用水与5%、10%乙醇提取。

本研究以黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和没食子酸为指标,通过正交试验确定了操作简便且稳定、合理的提取工艺,这可为芩榆烧伤凝胶的成型工艺和药理研究提供科学参考依据。

参考文献

- [1] 王曙东,刘文雅.凝胶剂的研究进展及应用概况[J].中国药业,2010,19(21):1.
- [2] 赖宝林,王利胜,张升,等.中药凝胶剂的研究进展[J].中药新药与临床药理,2010,21(2):211.
- [3] 王艳春,张忠艳,姜小卓.中药黄芩的药理及应用[J].中外医疗,2009(13):158.
- [4] 张子龙,刘东辉,黄月纯,等.关黄柏、黄柏及其精制提取物HPLC指纹图谱的相关性研究[J].中药新药与临床药理,2011,22(5):549.
- [5] 夏红昊,孙立立,孙敬勇,等.地榆化学成分及药理活性研究进展[J].食品与药品,2009,11(7):67.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:117,137,282.
- [7] 张婷,周平兰.HPLC法测定复方芩柏颗粒中黄芩苷和盐酸小檗碱含量[J].中药新药与临床药理,2009,20(4):349.
- [8] 曾祖平,邵蕊,乔文越,等.芩柏软膏与凝胶的含量测定[J].北京中医,2007,26(11):734.
- [9] 任爱农,孔铭,田耀洲.清清颗粒的质量标准研究[J].中成药,2007,29(3):456.

正交试验优选黄蜀葵花中总黄酮的提取工艺

李春花^{1*}, 刘雪丽², 郑文丽³, 张华潭³, 魏艳婷³, 武朝阳³(1.河北医科大学中医学院中药药剂教研室, 石家庄 050091; 2.灵寿县医院, 河北 灵寿 050500; 3.河北医科大学研究生学院, 石家庄 050017)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2535-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.14

摘要 目的: 优选黄蜀葵花中总黄酮的提取工艺。方法: 采用正交试验法, 以槲皮素含量为评价指标, 以回流时间、回流温度、酸化液量、酸化液配比(甲醇:25%盐酸)为考察因素, 优选酸化工艺; 以乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间、提取次数为考察因素, 优选总黄酮提取工艺。结果: 最佳酸化工艺为用25倍量甲醇-25%盐酸(4:1, V/V)酸化液, 70℃水浴回流0.5 h; 最佳提取工艺为用12倍量85%乙醇, 回流提取2次, 每次2.5 h。结论: 优选的工艺合理、可行, 可用于黄蜀葵花中总黄酮的提取。

关键词 正交试验; 黄蜀葵花; 总黄酮; 槲皮素; 提取工艺

Optimization of the Extraction Process for Total Flavonoids from *Abelmoschus manihot* by Orthogonal Test

LI Chun-hua¹, LIU Xue-li², ZHENG Wen-li³, ZHANG Hua-tan³, WEI Yan-ting³, WU Chao-yang³(1. Dept. of TCM, School of TCM, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050091, China; 2. Lingshou County Hospital, Hebei Lingshou 050500, China; 3. Past-graduate School, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction process of total flavonoids of *Abelmoschus manihot*. METHODS: The acidification technology was optimized by orthogonal experiment with the content of quercetin as index using reflux time, reflux temperature, amount of acid fluid, ratio of acid fluid (ethanol:25% hydrochloric acid) as factors. The extraction technology was optimized using ethanol concentration, ethanol consumption, extraction time and extraction times as factors. RESULTS: Optimized acidification technology was as follows: 25-folds of ethanol-25% hydrochloric acid (4:1, V/V) as acid fluid, 70℃ water bath for refluxing 0.5 h; optimized extraction technology was as follows: 12-folds of 85% ethanol, extracting 2 times, 2.5 h each time. CONCLUSIONS: Optimized technology is reasonable and feasible, and can be used for the extraction of total flavonoids from *A. manihot*.

KEY WORDS Orthogonal experiment; *Abelmoschus manihot*; Total flavonoids; Quercetin; Extraction technology

黄蜀葵为锦葵科植物黄蜀葵 *Abelmoschus manihot* (L.) Medic. 的干燥花冠, 具有清利湿热、消肿解毒之功效^[1]。现代研究表明, 黄蜀葵中黄酮类成分具有保护脑缺血、心肌缺血、心肌细胞, 改善血液流变学, 抗脂质过氧化等作用^[2-3]。金丝桃苷、槲皮素、异槲皮苷、槲皮苷等是黄蜀葵的主要有效成分, 且含量较高, 其化学结构均是以槲皮素为母核的黄酮类化合物^[4-5]。为保证药物疗效, 本试验采用 L₉(3⁴) 正交设计, 以高效液相色谱(HPLC)法测定黄蜀葵提取液酸化后的槲皮素含量, 并以此为指标, 优选总黄酮的提取工艺, 为实际生产和临

床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-10A 型 HPLC 仪, 包括 SPD-10A VP 紫外检测器、GCSolution 色谱工作站(日本岛津公司); RE-52 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); TG328B 型分析天平(上海精科天平仪器厂)。

1.2 药材

黄蜀葵药材购于河北安国药材市场, 经河北医科大学

- [10] 周现军. 黄芩中有效成分的提取工艺探讨[J]. 中外健康文摘, 2009, 8(15): 191.
- [11] 黄昆. 黄芩煎煮工艺及最佳粉碎粒度的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2005.
- [12] 江帆, 安崇惠, 朱亭潘, 等. 地榆药材及地榆升白胶囊中没食子酸的 HPLC 法测定[J]. 中草药, 2008, 39(9): 1 341.

- [13] 孙立立, 江波, 袁振海, 等. HPLC 测定地榆饮片中没食子酸的含量[J]. 中成药, 2006, 28(8): 1 144.
- [14] 刘利军, 李瑞莲. 反相高效液相色谱法测定地榆药材中没食子酸的含量[J]. 中国药师, 2009, 12(7): 979.
- [15] 柯泳伽, 谢仕伟. 地榆配方颗粒质量标准的研究[J]. 中国医药咨询, 2012, 4(2): 38.

* 教授, 硕士研究生导师, 硕士。研究方向: 中药制剂新技术、新方法。电话: 0311-86265343。E-mail: hbykdxlch@163.com

(收稿日期: 2012-08-29 修回日期: 2013-01-14)