

正交试验优选麻芎平喘颗粒中药材的提取工艺[△]

李卿^{1*},周兴¹,欧燕²,须建^{3#}(1.重庆市中药研究院,重庆 400065;2.重庆市綦江区人民医院,重庆 401420;3.重庆医药高等专科学校医学技术学院,重庆 401331)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)15-1377-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.15.11

摘要 目的:优选麻芎平喘颗粒中药材的提取工艺。方法:采用正交试验,以盐酸麻黄碱质量分数为评价指标,考察加水量、煎煮时间和煎煮次数对水提工艺的影响;以盐酸麻黄碱保留率、固形物减少率为评价指标,考察药液相对密度、醇沉浓度、醇沉时间对醇沉工艺的影响。结果:最佳水提醇沉工艺为加12倍量水,煎煮3次,分别为80、60、60 min,提取液浓缩至相对密度为1.25,冷却后加入乙醇使含醇量为60%,放置24 h,除去沉淀。结论:优选的水提醇沉工艺稳定、可行,重现性好,可用于麻芎平喘颗粒中药材的提取。

关键词 麻芎平喘颗粒;正交试验;盐酸麻黄碱;提取工艺

Optimization of the Extraction Technology of Maxiong Pingchuan Granule by Orthogonal Design

LI Qing¹, ZHOU Xing¹, OU Yan², XU Jian³ (1.Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 2.Chongqing Qijiang District People's Hospital, Chongqing 401420, China; 3.College of Medical Technology, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Maxiong pingchuan granule. METHODS: The effects of water amount, decoction time and decoction times on the water extraction technology were investigated by orthogonal design, using the content of ephedrine hydrochloride as index. The effects of relative density, the concentration and time of alcohol precipitation on alcohol precipitation technology were investigated by using the retention rate of ephedrine hydrochloride and decrement of solid mater as index. RESULTS: The optimal water extraction-alcohol precipitation technology was as follows: 12 folds of water, decocting 3 times, extracting for 80, 60, 60 min. Extract was condensed with relative density of 1.25, and then was added into ethanol after cooling with ethanol content of 60%; the precipitation was removed after placing for 24 h. CONCLUSIONS: The optimized water-extraction ethanol-precipitation technology is stable, feasible and reproducible, and can be used for the extraction of Maxiong pingchuan granule.

KEYWORDS Maxiong pingchuan granule; Orthogonal experiment; Ephedrine hydrochloride; Extraction technology

麻芎平喘颗粒为治疗哮喘的复方制剂,由麻黄、川芎、椒目等药材组成。为使其质量更加稳定,笔者采用L₉(3⁴)正交试验设计,以盐酸麻黄碱质量分数和固形物减少率为评价指标,优选麻芎平喘颗粒的水提醇沉工艺,进而为该制剂的规范化生产提供理论参考。

1 材料

1.1 仪器

2010A 高效液相色谱(HPLC)仪,包括LC-10AT_{VP}输液双泵、SPD-10A_{VP}紫外检测器(日本岛津公司)。

[△]基金项目:国家科技重大专项课题(No.2010ZX09401-306-3-12);重庆市基本科研业务费计划项目(No.2013cstc-jbky-01903);重庆市科研院所创新能力建设计划(中药新产品开发研究能力提升建设)项目(No.cstc2012pt-kyys10004)

* 助理研究员。研究方向:中药新药及质量标准。电话:023-89029048。E-mail:qingl666@sina.com

通信作者:副教授。研究方向:生物药品教学与研发。电话:023-61969077。E-mail:txujian@126.com

1.2 试剂

盐酸麻黄碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号:171241-201007);乙腈、磷酸为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 盐酸麻黄碱含量的测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈:0.1%磷酸溶液(含0.1%三乙胺)=3:97(V/V);流速:1 ml/min;柱温40℃;检测波长:210 nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 取干燥至恒质量的盐酸麻黄碱对照品5.50 mg,置50 ml量瓶中,以甲醇定容,精密量取10 ml,转移至25 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得0.044 mg/ml的盐酸麻黄碱对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取正交试验项下的提取液适量,浓缩至200 ml,精密量取5 ml,加水10 ml及浓氨试液0.5 ml,用乙醚提取4次(30、30、20、20 ml),合并乙醚液,加盐酸乙醇溶液(1→20)2 ml,混匀,低温回收溶剂至干,残渣加乙醇10 ml使溶解,转移至50 ml量瓶中,加0.1 mol/L盐酸溶液稀释至刻

度,摇匀,过微孔滤膜(0.45 μm),离心,即得。

2.1.4 标准曲线的制备 分别精密吸取盐酸麻黄碱对照品溶液2、4、6、8、10 μl,注入液相色谱仪,照上述色谱条件测定。以峰面积积分值(y)为纵坐标,盐酸麻黄碱对照品进样量(x, μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=1\ 037.5x-0.660\ 3$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,盐酸麻黄碱进样量在0.088~0.440 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2 正交试验优选水提工艺^[1-3]

2.2.1 试验设计与结果 根据预试验和笔者经验,按1/10处方量称取药材适量,选取加水量(A)、煎煮时间(B)、煎煮次数(C)为考察因素,每个因素选取3个水平,以提取液中盐酸麻黄碱质量分数为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。水提工艺的因素与水平见表1;水提工艺的正交试验结果见表2;水提工艺的方差分析结果见表3。

表1 水提工艺的因素与水平

水平	因素		
	A,倍	B,min	C,次
1	8	40	1
2	10	60	2
3	12	80	3

表2 水提工艺的正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal design of water extraction technology

试验号	A,倍	B,次	C,次	盐酸麻黄碱质量分数, %
1	1	1	1	0.465 6
2	1	2	2	0.652 6
3	1	3	3	0.677 9
4	2	1	2	0.697 5
5	2	2	3	0.725 6
6	2	3	1	0.501 8
7	3	1	3	0.669 1
8	3	2	1	0.526 2
9	3	3	2	0.810 7
K_1	1.796 1	1.832 2	1.493 6	
K_2	1.924 9	1.904 4	2.160 8	
K_3	2.006 0	1.990 4	2.072 6	
R	0.070 0	0.052 7	0.222 4	

表3 水提工艺的方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	0.007 5	2	0.003 7	1.40	
B	0.004 2	2	0.002 1	0.78	
C	0.087 6	2	0.043 8	16.42	
D(误差)	0.005 3	2	0.002 7		

注: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$

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

由表2、表3可知,各因素影响提取效果的大小顺序为 $C>A>B$,最佳工艺为 $A_3B_3C_2$,但B因素的2、3水平相差不大,而因素A、B、C对工艺的影响不明显,综合考虑实际生产中节约能耗、降低成本等因素,拟选取工艺为加12倍量水,煎煮3次,第1次80 min,第2、3次各60 min。

2.2.2 水提工艺验证试验 按处方比例称取药材适量,共3

批,分别采用最佳工艺和拟选取工艺进行提取,并测定盐酸麻黄碱的质量分数。结果,按最佳提取工艺提取的盐酸麻黄碱质量分数分别为0.80%、0.81%、0.81%;按拟选取工艺提取的盐酸麻黄碱质量分数分别为0.85%、0.86%、0.86%,表明拟选取的工艺稳定、可行。

2.3 正交试验优选醇沉工艺^[4-8]

2.3.1 试验设计与结果 根据预试验和笔者经验,选取药液相对密度(A)、醇沉浓度(B)、醇沉时间(C)为考察因素,按处方比例投料,照选定的水提取工艺提取,合并滤液,浓缩至一定密度后安排正交试验,醇沉后过滤,浓缩,干燥,得醇沉干膏。以盐酸麻黄碱保留率(盐酸麻黄碱保留率=醇沉后盐酸麻黄碱质量分数/醇沉前盐酸麻黄碱质量分数 $\times 100\%$)和固形物减少率[固形物减少率=(醇沉前固形物得量-醇沉后固形物得量)/醇沉前固形物得量 $\times 100\%$]为评价指标进行综合评分(综合评分=盐酸麻黄碱保留率/盐酸麻黄碱保留率 $\times 70\%$ +固形物减少率/固形物减少率 $\times 30\%$),采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。醇沉工艺的因素与水平见表4;醇沉工艺的正交试验结果见表5;醇沉工艺的方差分析结果见表6。

表4 醇沉工艺的因素与水平

水平	因素		
	A(60 ℃)	B, %	C, h
1	1.15	60	12
2	1.20	70	18
3	1.25	80	24

表5 醇沉工艺的正交试验结果

Tab 5 Results of orthogonal design of ethanol precipitation technology

列号	因素				评价指标		
	A	B	C	D(空白)	盐酸麻黄碱保留率, %	固形物减少率, %	综合评分
1	1	1	1	1	73.01	10.66	80.93
2	1	2	2	2	84.92	10.86	90.52
3	1	3	3	3	89.32	12.55	97.85
4	2	1	2	3	80.89	10.60	86.83
5	2	2	3	1	88.49	12.65	97.44
6	2	3	1	2	75.38	11.25	84.12
7	3	1	3	2	91.21	12.85	100.00
8	3	2	1	3	72.92	11.24	82.21
9	3	3	2	1	82.46	11.08	89.16
I_1	269.301	267.759	247.260	267.531			
II_1	268.389	270.171	266.511	274.641			
III_1	271.371	271.131	295.290	266.889			
R_1	2.982	3.372	48.03	7.752			

表6 醇沉工艺的方差分析结果

Tab 6 Analysis of variance of ethanol precipitation technology

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	1.554 8	2	0.777 4	0.12	
B	2.009 6	2	1.004 8	0.16	
C	389.525 8	2	194.762 9	31.58	<0.05
D(误差)	12.336 0	2	6.168 0		

注: $F_{0.05}(2, 2)=19.00$

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

由表5、表6可知,各因素影响醇沉效果的大小顺序为 $C>$

B>A,其中C因素对工艺的影响有统计学意义($P<0.05$)。最佳工艺为A₃B₃C₃,因A、B因素对醇沉效果基本无影响,从节约成本考虑,确定醇沉方案为A₃B₃C₃,即药液浓缩至相对密度为1.25(60℃),放冷后加入一定量的乙醇使药液含醇量为60%,放置24h,滤过,即得。

2.3.2 醇沉工艺验证试验 取药液相对密度为1.25的药液3份,分别加入一定量乙醇,使含醇量为60%进行醇沉,醇沉时边搅拌边缓慢加入乙醇,以避免药液中局部乙醇浓度过高造成有效成分被沉淀物包裹导致的损失。静置24h,滤过,分别测定麻黄碱保留率和固形物减少率。结果,麻黄碱保留率分别为91.15%、91.09%、91.24%,固形物减少率分别为12.56%、12.44%、12.78%,综合评分分别为99.26、98.93、99.84,与正交试验结果相当,表明优选的醇沉工艺合理、可行。醇沉工艺验证试验结果见表7。

表7 醇沉工艺验证试验结果

Tab 7 Results of validation tests of ethanol precipitation technology

试验号	盐酸麻黄碱保留率, %	固形物减少率, %	综合评分
1	91.15	12.56	99.26
2	91.09	12.44	98.93
3	91.24	12.78	99.84

3 讨论

处方中麻黄为君药,据文献报道,麻黄的主要有效成分是生物碱类化合物^[9-10]。大量药理实验表明,盐酸麻黄碱是平喘的有效成分,盐酸麻黄碱比相同浓度的伪麻黄碱有更强(2~4倍)的平喘效果,故推测盐酸麻黄碱是麻黄及其制剂平喘作用的主要成分。因此,本研究以有效成分麻黄碱的质量分数作为主要评价指标,

由于本处方含有熟地黄等药材,水提液中含有较多药渣微粒、淀粉、黏液质等杂质,影响制剂的成型及患者的依从性,故需除去水提取液中富余的杂质。试验考察了高速离心工艺和乙醇沉淀工艺的除杂效果,高速离心除杂是一种高效的物

理除杂方法,对有效成分影响较小;乙醇沉淀法是利用有效成分能溶于乙醇但杂质不溶于乙醇而被沉淀出来的方法^[11]。试验结果表明,高速离心工艺与乙醇沉淀法对盐酸麻黄碱的保留率都相差不大,但是醇沉工艺固形物减少得更多,因此选择醇沉法作为本制剂的除杂工艺。

综上,本研究优选的水提醇沉工艺稳定、可行,重现性好,可用于麻芎平喘颗粒中药材的提取。

参考文献

- [1] 张军武,赵琦.肤净康洗剂中盐酸麻黄碱含量测定方法的改进[J].吉林中医药,2008,28(6):449.
- [2] 钟宁远,吕林锋.银黄清肺胶囊中盐酸麻黄碱含量测定方法的改进[J].西北药学杂志,2011,26(4):264.
- [3] 王玲,高晓黎.麻黄及其复方制剂中麻黄碱含量测定的研究进展[J].新疆医科大学学报,2006,29(10):1 005.
- [4] 宋伟.正交设计优化中药麻黄复方制剂醇沉工艺研究[J].贵州医药,2010,34(9):836.
- [5] 何梅凤,吴伟,唐细兰.知柏八味口服液澄清工艺研究[J].中国中医药科技,2012,19(5):428.
- [6] 陆萍,倪东杰,郭良君.壳聚糖澄清剂与醇沉法制备健骨口服液的比较[J].中国药师,2012,15(11):1 580.
- [7] 袁淑婧,范玲,周琴妹.清咽口含片醇沉工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(21):25.
- [8] 李天辰,沈侃,韩伟.益气散聚方的水提醇沉工艺研究[J].中成药,2012,34(11):2 257.
- [9] 张潮,潘金火,史锁芳.正交试验法优选平哮颗粒的提取纯化工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(18):42.
- [10] 史秀玲,高银辉,梁海英.正交试验优选杜仲多糖提取工艺[J].中国药房,2012,23(3):223.
- [11] 楚笑辉,唐路梅,夏新华.壳聚糖絮凝澄清工艺与醇沉工艺纯化乙肝宁复方水提液的对比[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):1.

(收稿日期:2013-09-22 修回日期:2013-11-14)

国家中医药管理局副局长王志勇会见澳大利亚西悉尼大学校长巴尼·格洛夫一行

本刊讯 2014年3月10日,国家中医药管理局副局长王志勇在京会见了来访的澳大利亚西悉尼大学校长巴尼·格洛夫一行。

王志勇首先对格洛夫履任西悉尼大学校长一职表示祝贺并欢迎其率团访问国家中医药管理局,对西悉尼大学及其国家辅助医学研究所在中澳中医药领域合作做出的突出贡献表示高度赞赏。

格洛夫表示,澳大利亚政府为在澳中医药事业的发展提供了快速通道,中澳两国政府对中医药发展的支持为两国中医药合作创造了前所未有的发展机遇。他简要介绍了西悉尼

大学国家辅助医学研究所与中国中医科学院、西苑医院和中国中药企业等机构的合作情况以及中药在澳注册研究等近期重点项目和合作方向。

王志勇表示,国家中医药管理局把中医药国际化作为一项重要任务,鼓励用现代科技的成果推动中医药的发展,将全力支持两国科研、医疗机构开展中医药领域的合作,希望西悉尼大学与中医药各类机构开展的多种形式合作取得丰富成效,为两国人民造福,为未来中医药国际合作发挥良好的示范作用。