

# 正交试验优选复方桑菊口服液中药材的提取工艺

彭凯丽<sup>1\*</sup>, 李新民<sup>1</sup>, 李元林<sup>1</sup>, 侯飞燕<sup>2</sup>(1.娄底市中心医院, 湖南 娄底 417000; 2.怀化医学高等专科学校药学院, 湖南 怀化 418000)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0243-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.17

**摘要** 目的: 优选复方桑菊口服液中药材的提取工艺。方法: 以加水量、浸泡时间、提取时间、提取次数为考察因素, 以连翘苷提取量、绿原酸提取量及干膏得率为评价指标, 采用正交试验优选桑叶、野菊花、连翘、甘草、桔梗、芦根、苦杏仁的水提取工艺; 以浸泡时间、超声时间、提取时间、加水量为考察因素, 以挥发油得率为评价指标, 采用正交试验优选薄荷叶的水蒸气蒸馏提取工艺。结果: 优选的水提取工艺为加8倍量的水, 浸泡2 h, 提取2次, 每次1.5 h; 薄荷叶的提取工艺为加10倍量的水, 浸泡1 h, 超声处理60 min, 提取4 h。结论: 所选工艺合理、可行, 可用于复方桑菊口服液中药材的提取。

**关键词** 桑菊口服液; 提取工艺; 正交试验

## Optimization of Extraction Technology of Chinese Medicinal Materials from Compound Sangju Oral Liquid

PENG Kai-li<sup>1</sup>, LI Xin-min<sup>1</sup>, LI Yuan-lin<sup>1</sup>, HOU Fei-yan<sup>2</sup>(1.Loudi Municipal Central Hospital, Hunan Loudi 417000, China; 2.Dept. of Pharmacy, Huaihua Medical College, Hunan Huaihua 418000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Chinese medicinal materials from Compound sangju oral liquid. METHODS: The water extraction technologies of *Morus alba*, *Chrysanthemum indicum*, *Forsythia suspense*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Platycodon grandiflorum*, *Phragmites communis*, Semen Armeniacae Amarum were optimized by orthogonal experiment with amount of water, soaking time, extraction time and extraction times as factor using the extraction volume of phillyrin and chlorogenic acid, the yield of extract as index. The extraction technology of *Mentha haplocalyx* was optimized by orthogonal experiment with soaking time, ultrasonic processing time, extraction time and amount of water as factors using the yield of volatile oil as index. RESULTS: Optimal water extraction technology was as follows: 8 folds of water, soaking for 2 h, extracting for 2 times, 1.5 h each time. The extraction technology of *M. haplocalyx* was as follows: 10 folds of water, soaking for 1 h, ultrasonic processing time of 60 min, extracting for 4 h. CONCLUSIONS: The optimal technology is reasonable and feasible, and it can be used for the extraction of Chinese medicinal materials from Compound sangju oral liquid.

**KEYWORDS** Sanju oral liquid; Extraction process; Orthogonal experiment

复方桑菊口服液由复方桑菊煎剂改剂型而成, 后者系清代《温病条辨》中的“桑菊饮”发展而来, 由桑叶、野菊花、连翘、甘草、桔梗、芦根、苦杏仁、薄荷叶等8味药材组成, 具有清热解毒、辛凉解表、利咽消肿的作用, 用于治疗病毒性流感或病毒混合感染引起的呼吸道感染<sup>[1-4]</sup>。复方桑菊煎剂为临床使用10余年的经验方, 现拟将其开发成复方桑菊口服液<sup>[5]</sup>。为保证制剂的质量及疗效, 笔者采用正交试验对复方桑菊口服液的中药材的提取工艺进行优选。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 高效液相色谱(HPLC)仪(美国安捷伦科技有限公司); UVProbe-2450 紫外-可见分光光度仪(日本岛津公司); BP211D 电子天平(德国 Sartorius 公司); pH-3C 数字酸度计(上海雷磁仪器厂); 真空干燥箱(上海实验仪器总厂); 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司, 功率: 200 W, 频率: 53 kHz); 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

### 1.2 试剂

\* 主管药师, 硕士。研究方向: 医院药学及中药有效成分分析。  
E-mail: pengk11980@163.com

绿原酸、连翘苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110824-200904、110768-200903); 乙腈为色谱纯, 水为纯净水并经 0.45 μm 水系滤膜滤过, 其余试剂均为分析纯。

### 1.3 药材

所用药材均购于湖南福泰中药饮片公司, 经湖南省药品检验所鉴定符合 2010 年版《中国药典》(一部)项下规定。

## 2 方法与结果

### 2.1 工艺设计<sup>[6]</sup>

在遵循传统中医药理论基础, 根据笔者经验, 对方中桑叶、野菊花、连翘、甘草、桔梗、芦根和苦杏仁等7味药材采用水提法提取有效成分; 对方中薄荷叶采用水蒸气蒸馏法提取有效成分。

### 2.2 正交试验优选水提取工艺

2.2.1 试验设计 根据前期试验结果, 按处方比例称取 1/2 处方量的各药材, 选取对提取工艺影响较大的加水量(A)、浸泡时间(B)、提取时间(C)、提取次数(D)为考察因素, 以连翘苷、绿原酸提取量和干膏得率为评价指标, 按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验。因素与水平见表 1。

2.2.2 连翘苷、绿原酸含量测定 (1) 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack VP-ODS C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙

腈(A)-0.2%醋酸水溶液(B)(梯度洗脱:0 min, 15% A; 20 min, 25% A),柱温为 25 ℃,检测波长为 220 nm,流速为 1.0 ml/min,进样量为 20 μl。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, 倍	B, h	C, h	D, 次
1	6	0.5	1.0	1
2	8	1.0	1.5	2
3	10	2.0	2.0	3

(2)对照品溶液的制备:精密称取绿原酸对照品 10 mg、连翘苷对照品 20 mg,分别置 100 ml 棕色量瓶中,加入 50% 甲醇超声溶解并稀释至刻度,摇匀,得到每 1 ml 含 0.1 mg 绿原酸和 0.2 mg 连翘苷的对照品贮备液。精密移取此贮备液 5 ml,置 100 ml 量瓶中,加 50% 甲醇定容,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得每 1 ml 含 5 μg 绿原酸和 10 μg 连翘苷的对照品溶液。

(3)标准曲线的制备:精密吸取两种对照品溶液各 2、4、8、10、20、30、50 μl,按上述色谱条件分别进样测定。分别以绿原酸、连翘苷峰面积积分值(y)为纵坐标,进样量(x, μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y_{\text{绿原酸}}=5896.2x+34.6$ , $y_{\text{连翘苷}}=4567.5x+57.6$ (r均为 0.999 9, n均为 7)。结果表明,绿原酸、连翘苷进样量分别在 0.01~0.25、0.02~0.50 μg 范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.3 干膏得率的测定 精密量取水提取液 50 ml,置于已干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干后,置干燥器中冷却 1 h,称质量,计算干膏得率[干膏得率=干膏质量(g)/药材总质量(g)×100%]。

2.2.4 正交试验结果与分析 按处方称取桑叶、野菊花、连翘、甘草、桔梗、芦根和苦杏仁等 7 味药材适量,照表 1 安排进行提取,量取水提取液适量,滤过,滤液浓缩至 10 ml 左右,置 100 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,取 0.5 ml 注入被 10% 甲醇溶液活化的 Sep-Pack C<sub>18</sub> 固相萃取柱,用 2 ml 30% 甲醇以 1 滴/s 的速度推出,淋洗液定容于 5 ml 棕色量瓶中,摇匀,经 0.45 μm 有机微孔滤膜滤过,按“2.2.2”、“2.2.3”项下方法测定水提取液中连翘苷、绿原酸提取量和干膏得率。正交试验结果见表 2;方差分析结果见表 3。

由表 2、表 3 可知,不同评价指标下,各因素对工艺的影响程度各不同,但因素 B 对 3 个指标的影响都有统计学意义(P<0.05)。以连翘苷提取量为评价指标,最佳提取工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>;以绿原酸的提取量为评价指标,最佳提取工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>;以干膏得率为评价指标,最佳提取工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>。结合实际生产,确定提取工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即加 8 倍量的水,浸泡 2 h,提取 2 次,每次 1.5 h。

2.2.5 工艺验证试验 按处方比例称取 1/2 处方量的各药材,共 3 份,按优选的最佳工艺分别进行提取,按“2.2.2”“2.2.3”项下方法测定提取液中连翘苷提取量、绿原酸提取量和干膏得率。结果显示,各指标测定结果与正交试验结果最高值相当,表明优选工艺合理、可行,可用于复方桑菊口服液桑叶、野菊花、连翘、甘草、桔梗、芦根、苦杏仁的提取。工艺验证试验结果见表 4。

### 2.3 正交试验优选水蒸气蒸馏提取工艺

2.3.1 薄荷油的提取方法<sup>[7]</sup> 称取薄荷叶粗粉(过 20 目筛)50 g,置于烧杯中,加入一定量的水浸泡一段时间后,超声处理一

表 2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal tests

试验号	因素				连翘苷提取量,mg	绿原酸提取量,mg	干膏得率,%
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	57.26	11.44	20.06
2	1	2	2	2	58.71	12.22	22.32
3	1	3	3	3	62.27	12.24	24.62
4	2	1	2	3	59.12	11.95	23.16
5	2	2	3	1	61.23	10.97	21.26
6	2	3	1	2	62.98	13.54	25.34
7	3	1	3	2	60.12	12.61	21.22
8	3	2	1	3	59.23	10.72	20.98
9	3	3	2	1	61.23	13.32	22.71
连翘苷	I	178.24	176.5	179.47	179.72		
提取量	II	183.33	179.17	179.06	181.81	CT=(Σy) <sup>2</sup> /9=32 658	
	III	180.58	186.48	183.62	180.62	S <sub>s</sub> =(I <sup>2</sup> +II <sup>2</sup> +III <sup>2</sup> )/3-CT	
	R	5.09	9.98	4.56	2.09		
	S <sub>s</sub>	4.33	17.80	4.24	0.73		
绿原酸	I	35.90	36.00	35.70	35.73		
提取量	II	36.46	33.91	37.49	38.37	CT=(Σy) <sup>2</sup> /9=1 320	
	III	36.65	39.10	35.82	34.91	S <sub>s</sub> =(I <sup>2</sup> +II <sup>2</sup> +III <sup>2</sup> )/3-CT	
	R	0.75	5.19	1.79	3.46		
	S <sub>s</sub>	0.10	4.55	0.67	2.18		
干膏得率	I	67.00	64.44	66.38	64.03		
	II	69.76	64.56	68.19	68.88	CT=(Σy) <sup>2</sup> /9=4 519	
	III	64.91	72.67	67.10	68.76	S <sub>s</sub> =(I <sup>2</sup> +II <sup>2</sup> +III <sup>2</sup> )/3-CT	
	R	4.85	8.23	1.09	4.85		
	S <sub>s</sub>	3.95	14.84	0.55	5.10		

表 3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

评价指标	方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
连翘苷提取量	A	4.33	2	2.17	5.93	
	B	17.80	2	8.90	24.38	<0.05
	C	4.24	2	2.12	5.81	
	D	0.73	2	0.37	1.36	
	误差	0.85	2	0.43		
绿原酸提取量	A	0.10	2	0.05	1.34	
	B	4.55	2	2.27	48.25	<0.05
	C	0.67	2	0.34	7.23	
	D	2.18	2	1.09	22.30	<0.05
	误差	0.52	2	0.26		
干膏得率	A	3.95	2	1.92	7.32	
	B	14.84	2	7.42	31.27	<0.05
	C	0.55	2	0.28	1.12	
	D	5.10	2	2.55	10.61	
	误差	0.97	2	0.49		

注:F<sub>0.05</sub>(2,2)=19.00

note:F<sub>0.05</sub>(2,2)=19.00

表 4 工艺验证试验结果

Tab 4 Results of validation test

组别	干膏得率,%	连翘苷提取量,mg	绿原酸提取量,mg
1	24.85	66.24	13.45
2	25.33	61.37	15.26
3	26.12	63.44	13.98
RSD,%	4.5	3.5	6.1

定时间。处理完后,倒入挥发油提取器中,按 2010 年版《中国药典》(一部)附录 XD 项下挥发油测定法(甲法)进行操作。

2.3.2 正交试验设计与结果 根据预试验结果和笔者经验,

选择浸泡时间(A)、超声时间(B)、提取时间(C)、加水量(D)为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。并按下式计算挥发油得率:挥发油得率=得到挥发油量(ml)/药材总质量(g)×100%,以此为评价指标,优选工艺。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, h	B, min	C, h	D, 倍
1	1.0	30	4	6
2	1.5	60	6	8
2	2.0	90	8	10

表6 正交试验结果

Tab 6 Results of orthogonal test

试验号	因素				挥发油得率, %
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.76
2	1	2	2	2	0.66
3	1	3	3	3	0.78
4	2	1	2	3	0.62
5	2	2	3	1	0.46
6	2	3	1	2	0.50
7	3	1	3	2	0.30
8	3	2	1	3	0.64
9	3	3	2	1	0.50
I	0.73	0.56	0.63	0.57	
II	0.58	0.59	0.59	0.49	
III	0.43	0.59	0.51	0.68	
R	0.25	0.03	0.12	0.19	

表7 方差分析结果

Tab 7 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	0.109 1	2	0.054 5	58.43	<0.05
B	0.001 9	2	0.000 9	1.00	
C	0.122 4	2	0.011 2	12.00	
D	0.056 3	2	0.028 1	30.15	<0.05
误差	0.001 9	2	0.000 9		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

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

由表6、表7可知,各因素对挥发油得率的影响大小顺序为A>D>C>B,其中因素A、D对挥发油得率的影响有统计学意义( $P<0.05$ )。最佳工艺条件为 $A_1B_2C_1D_3$ ,即加10倍量的水,浸泡1 h,超声处理60 min,提取4 h。

2.3.3 工艺验证试验 称取薄荷叶粗粉(过20目筛)3份,每份50 g,按优选的工艺分别进行提取,按“2.3.1”“2.3.2”项下方法操作,并测定挥发油得率。结果显示,挥发油得率分别为0.87%、0.82%、0.81%,  $RSD=5.1\%$  ( $n=3$ ),均高于正交试验结果,表明所选工艺合理、可行,可用于复方桑菊口服液薄荷

荷叶的提取。

### 3 讨论

结合本处方中各药材的性质,在遵循中医药理论和保证药效的基础上,通过文献报道的桑叶、野菊花、连翘、甘草、桔梗、芦根、苦杏仁中化学成分分析结果显示,这些药材的有效成分中水溶性的成分较多,故采用传统的水提法。文中以君药(桑叶和野菊花)和臣药(连翘)的活性成分绿原酸、连翘苷为检测指标优化水提工艺;而干浸膏是药物治疗疾病的物质基础,故也应作为检测指标。

薄荷叶中主要有效成分为挥发油类,为了提高挥发油的提取率,故将薄荷叶与其他药材分开提取。文献报道薄荷油的提取方法除了水蒸气蒸馏法外,还有冷浸法、超声波提取法和超临界 $CO_2$ 萃取法,后3种方法的提取率都比水蒸气蒸馏法高<sup>[8]</sup>。但是,在薄荷油的实际生产应用中,通常采用水蒸气蒸馏法提取,因为冷浸法和超声波提取法都会使用有机溶剂,容易造成溶剂残留,对环境有污染;而相比超临界 $CO_2$ 萃取法,水蒸气蒸馏法操作简单、易于控制,成本较低,适合放大生产。

在纯化工工艺研究中发现,沉降分离法(静置过夜)操作简便,且溶液澄明度较好<sup>[9]</sup>;在成型工艺研究中发现,可选用蔗糖来矫味,用量以10% (g/ml)为宜,防腐剂宜选择0.2%苯甲酸钠;pH在3.5~5.5范围时,溶液澄明度较好,必要时可加入少量0.1 mol/ml HCl或 $NaHCO_3$ 调pH。

### 参考文献

- [1] 郑璐璐,张贵君.野菊花药效组分抗炎的生物效应研究[J].天津中医药,2011,28(3):251.
- [2] 段飞,张双民,杨建雄,等.连翘叶提取物抑菌作用的研究[J].西北药学杂志,2005,20(2):59.
- [3] 张保国,梁晓夏,刘庆芳,等.桑菊饮药效学研究及现代临床应用[J].中成药,2007,29(12):1 813.
- [4] 王春芳,张卫兵.HPLC测定抗病毒口服液中连翘苷的含量[J].中国药品标准,2004,5(3):44.
- [5] 周志祥,周茂万,代大木.医院中药制剂存在问题及发展对策的探讨[J].时珍国医国药,2006,17(4):670.
- [6] 史秀玲,高银辉,梁海英,等.正交试验优选杜仲多糖的提取工艺[J].中国药房,2012,23(3):223.
- [7] 蒲维维,杨万政,王捷.薄荷油挥发油提取工艺的研究[J].内蒙古石油化工,2011,37(22):6.
- [8] 梁呈元,傅晖,李维林,等.薄荷油不同提取方法的比较[J].时珍国医国药,2007,18(9):2 085.
- [9] 张贻昌,任颂今,郝松.关于中药口服液澄清度控制的思考[J].中国药业,2010,19(24):48.

(收稿日期:2013-01-01 修回日期:2013-02-05)

《中国药房》杂志——RCCSE中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅