

栝蒌根丸水提取工艺正交优选

赵琳琳, 马燕, 赵媛, 肖倩, 郭肖菲, 韩刚*, 喇万英
(华北煤炭医学院, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 优选栝蒌根丸水提取的最佳工艺。方法: 采用 4 因素 3 水平正交设计, 高效液相色谱法测定小檗碱含量, 以提取物中小檗碱含量为检测指标, 筛选出栝蒌根丸的优化提取条件。结果: 栝蒌根丸的最佳水提取工艺为加 10 倍量水煎煮 2.0 h, 提取 2 次。结论: 栝蒌根丸水提取工艺简单、易于操作、不使用有机溶剂、成本低廉。

[关键词] 栝蒌根丸; 正交试验; 黄连; 小檗碱

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0024-03

Study on Extraction Process for Berberine of Kuolougenwan with Orthogonal Design

ZAO Lin-lin, Ma Yan, ZHAO Yuan, XIAO Qian, GUO Xiao-fei, HAN Gang*, LA Wan-ying
(North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the optimized extraction process of berberine hydrochloride, one of the effective parts of Kuolougenwan. **Method:** An orthogonal experimental design $L_9(3^4)$ test was adopted in this study. And the content of berberine hydrochloride was determined to fit its quality standard, screening out the best method of extraction conditions. **Result:** The best extracting technical conditions were as follows: 10 times amount of water, extraction for 2 hour and extracted 2 times. **Conclusion:** The optimized process is simple, fast and feasible with good stability and repeatability.

[Key words] Kuolougenwan; orthogonal test; extraction; berberine hydrochloride

栝蒌根丸是由天花粉、黄连、知母、麦冬等 4 味中药组成的中药方剂。该方收载于《圣济总录》^[1], 主治中焦热结, 肠胃不通, 引饮无度^[2]。原方将上述 4 味中药研成粉末, 用炼蜜制丸, 服用剂量大, 且生药材吸收差。为了改进栝蒌根丸的制剂工艺, 考虑到天花粉、黄连、知母、麦冬中有效成分多为水溶性, 故采以水为溶剂对栝蒌根丸进行提取工艺研究^[3]。采用正交设计对提取工艺进行优化, 高效液相色谱法测定小檗碱的含量。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司, 四元梯度泵, 手动进样, Agilent 工作站); AE240 电子天平(瑞士 Mettler 公司); SK-1 型快速混匀器(江苏医疗仪器厂)。

天花粉、黄连、知母、麦冬均购自唐山市同仁堂大药房, 经华北煤炭医学院喇万英教授鉴定, 符合 2005 年版《中国药典》一部之规定^[4]; 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 含量 > 97%, 批号 110713-200911); 色谱纯甲醇(美国 Fisher 公司), 水为亚沸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 小檗碱含量测定方法

2.1.1 色谱条件 Agilent 公司 Zorbax SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.05 mol·L⁻¹ KH₂PO₄ (22: 78); 检测波长 350 nm; 流速

[收稿日期] 20101027(007)
[基金项目] 中匈国际合作项目 2008DFA31050
[第一作者] 赵琳琳, 讲师, 从事中药新剂型及药效研究, Tel: 0315-3726307, E-mail: tsyxzl@163.com
[通讯作者] * 韩刚, 教授, 药物新剂型研究, Tel: 0315-3726303, E-mail: tsyxhg@163.com

1.0 mL·min⁻¹;柱温:25 ℃;理论板数按盐酸小檗碱

计算不低于4 000。见图 1。

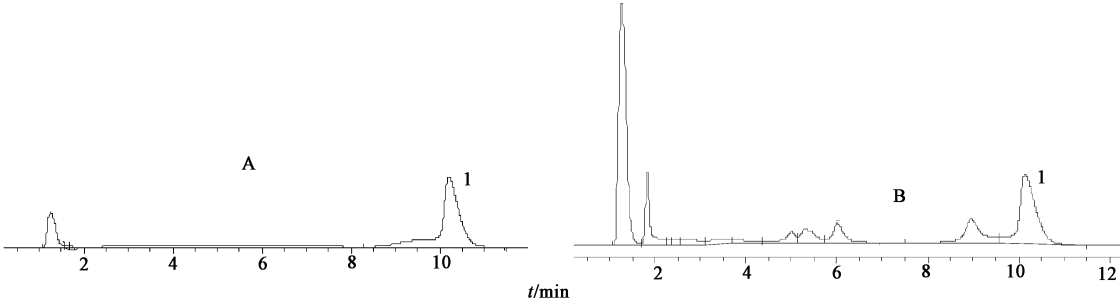


图 1 栝蒌根丸水提浸膏中盐酸小檗碱 HPLC
A. 对照品; B. 样品; 1. 盐酸小檗碱

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱标准品 3.26 mg,至 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并定容至刻度,摇匀。制成 326 mg·L⁻¹的盐酸小檗碱对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取干燥栝蒌根丸水提浸膏约 1.5 g,至 10 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,超声振荡 20 min,即为供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密吸取上述对照品溶液,配置成盐酸小檗碱质量浓度分别 5,10,15,20,40,60,80 mg·L⁻¹的系列标准溶液。按照上述色谱条件,吸取系列标准溶液 20 μL,注入高效液相色谱仪中进行测定,以盐酸小檗碱质量浓度 X 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线。计算得回归方程为 $Y = 50.221X$, $r = 0.9998$ 。结果表明,盐酸小檗碱在 5~80 mg·L⁻¹线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 按照上述色谱条件,吸取 10,40,60 mg·L⁻¹标准溶液各 20 μL,注入高效液相色谱仪中测定峰面积。结果 RSD 分别为 1.34%,1.20%,1.49% ($n = 6$)。

2.1.6 回收率试验 取已知盐酸小檗碱含量的栝蒌根丸供试品溶液 6 份,分别精密加入标准溶液 0.1 mL,摇匀,按照上述色谱条件,20 μL 进样测定峰面积。计算得平均回收率 99.48%,RSD2.68%。

2.2 栝蒌根丸提取工艺 根据预试验结果,于回流装置中加入天花粉 125 g,黄连 125 g,知母 125 g,麦冬 125 g,回流提取。以加水量、提取时间和提取次数 3 个因素的 3 个水平,采用 L₉(3⁴)正交试验正交试验进行优化,因素水平见表 2,各次试验的测定结果见表 2,对盐酸小檗碱含量试验结果方差分析见表 3。

表 1 盐酸小檗碱加样回收率

干浸膏 质量/g	样品含量 /mg	加入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%
1.420	29.06	32.60	60.29	95.80
1.475	30.17	32.60	62.22	98.31
1.469	30.05	32.60	62.24	98.74
1.435	29.36	32.60	63.07	103.4
1.435	29.35	32.60	61.86	99.72
1.444	29.55	32.60	62.45	100.9

表 2 栝蒌根丸提取工艺因素水平

水平	A	B	C
	加水量/倍	提取时间/h	提取次数
1	10	1.0	1
2	8	1.5	2
3	6	2.0	3

表 3 栝蒌根丸提取 L₉(3⁴) 正交试验设计与结果

No.	A	B	C	D	提取物 得量/g	出膏率 /%	盐酸小檗碱 /%
1	1	1	1	1	109.9	21.98	1.07
2	1	2	2	2	171.04	34.28	2.01
3	1	3	3	3	202.03	40.41	1.92
4	2	1	2	3	151.33	30.27	1.31
5	2	2	3	1	182.49	36.50	1.7
6	2	3	1	2	114.65	22.93	1.19
7	3	1	3	2	174.7	34.94	1.35
8	3	2	1	3	89.07	17.81	1.1
9	3	3	2	1	151.73	30.35	1.75
K ₁	1.67	1.24	1.12	1.51			
K ₂	1.40	1.60	1.69	1.52			
K ₃	1.40	1.62	1.66	1.44			
R	0.27	0.38	0.57	0.07			

表 4 盐酸小檗碱含量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F
A	0. 142	2	0. 071	14. 99
B	0. 272	2	0. 135	28. 64
C	0. 614	2	0. 307	64. 71
D(误差)	0. 009	2	0. 005	

结果表明,A,B,C 因素对黄连中盐酸小檗碱的提取效率影响的主次关系为 $C > B > A$,即提取次数对盐酸小檗碱提取效率影响最大,其次为提取时间,再次为加水量。方差分析结果表明,提取次数和提取时间对盐酸小檗碱的提取效率的影响差异有统计学意义($P < 0. 05$)。故从节约成本的角度考虑最佳组合水平为 $A_1B_3C_2$,即每份 500 g,10 倍量水回流提取 2 次(每次 2. 0 h)。

3 讨论

盐酸小檗碱在 290,350,420 nm 处存在吸收峰,以 350 nm 处吸收最强,选定检测波长为 350 nm。 栝蒌根丸系传统名方,在提取工艺设计时,根据文献资料分析每味药中有效成分与药理作用,方中天花粉、黄连、知母、麦冬主要活性成分均溶于水,故采用水提取工艺,以黄连中的小檗碱为评价指标,用多指标经综合平衡所得的工艺条件能根据实际需要并兼顾到各指标的理化性质。

糖尿病的发病率近年呈持续上升趋势,糖尿病的预防和治疗已成为目前医药界的一个重要课题。栝蒌根丸中天花粉^[5]、黄连^[6]、知母^[7]、麦冬^[8]等 4 味中药均有降血糖作用。由以上 4 味中药组成的栝蒌根丸在临床上用于治疗糖尿病有一定疗效。

[参考文献]

[1] 刘淑彦,董尚朴,郝蕾,等.《圣济总录》对《内经》病证的补充与发挥[J].时珍国医国药,2009,20(8):2092.

[2] 马国海.中医治疗糖尿病研究进展[J].新中医,2008,40(2):122.

[3] 尹强,许锋,彭松.黄连天花粉混合后提取工艺的研究[J].湖北中医,2008,30(1):56.

[4] 中国药典.一部[S].2005:213.

[5] 张一炼.田玉美运用天花粉治疗消渴兼证[J].湖北中医杂志,2005,27(12):14.

[6] 王静,武敏.黄连素治疗老年 2 型糖尿病神经病变的疗效观察[J].中国老年学杂志,2010,30(6):1740.

[7] 黄芳,徐丽华,郭建明,等.知母提取物的降血糖作用[J].中国生化药物杂志,2005,26(6):332.

[8] 毛讯.麦冬冬提取物对糖尿病小鼠空腹血糖及胸腺、脾脏指数的影响[J].中国老年学杂志,2010,30(13):1861.

[责任编辑 仝燕]

欢迎订阅 2011 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、药理、临床、综述、学术交流、基层园地、消息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,240 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2011 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com