

# 正交试验法优选罗银胶囊提取工艺的研究<sup>\*</sup>

★ 魏惠珍<sup>1</sup> 张爱玲<sup>1</sup> 王金钱<sup>1</sup> 向竹枝<sup>2</sup> 龚建平<sup>1\*\*</sup> (1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006; 2. 江西中医学院 南昌 330006)

**摘要:**目的:研究辅助性降压保健品罗银胶囊的最佳提取工艺。方法:通过 $L_9(3^4)$ 正交试验法,以煎煮次数、加醇量、煎煮时间为影响因素,以浸膏得率、有效成分总黄酮含量为评价指标,采用正交设计助手方差分析软件进行方差分析,筛选罗银胶囊的最佳提取工艺。结果:最佳提取工艺条件为加10倍量70%乙醇,煎煮3次,每次1h。结论:优化后的罗银胶囊的提取工艺条件科学、合理、可行,对于提高中药保健品的质量具有一定的参考价值。

**关键词:**罗银胶囊;正交实验;提取工艺

中图分类号:R 284.2 文献标识码:A

## Orthogonal Design to Optimize the Extraction Technics of Luoyin Capsule

WEI Hui-zhen<sup>1</sup>, ZHANG Ai-ling<sup>1</sup>, WANG Jin-qian<sup>1</sup>, XIANG Zhu-zhi<sup>2</sup>, GONG Jian-ping<sup>1\*\*</sup>

1. National Pharmaceutical Engineering Center (NPEC) for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006

**Abstract:** Objective: To study the optimal extraction technics of Luoyin capsule as a kind of subsidiarity hypotensive drug. Methods: Through  $L_9(3^4)$  orthogonal test method, take times of boiling, the amount of alcohol and boiling time as influence factors, and the ratio of obtaining concretes and the content of effective ingredient of total flavonoids as appraisal target, carry analysis of variance through using software of orthogonal design assistant analysis of variance, filter the optimal extraction of Luo silver capsule. Results: Optimum extraction conditions were 10-fold 70% ethanol, boiling three times, one hour each time. Conclusion: The optimal extraction technology is scientific, rational and feasible. In this study, it has a certain reference value for improving the quality of health products as traditional Chinese medicine.

**Key words:** Luoyin Capsule; Orthogonal Design; Extraction Technics.

随着生活水平的提高,高血压呈年轻化趋势,以及人们的保健意识持续提高,越来越多的人选择中医药进行自我保健。然而目前中药降压保健品的质量和效果不尽人意,多存在提取工艺粗糙、指标成分不明确等问题。因此,如何对降压保健品的提取工艺进行科学合理的研究,确保产品质量有效可控,是当前保健品研制迫切需要解决的问题。本实验以罗银胶囊为模型药物,运用现代科学分析方法,开展提取工艺等相关方面的研究。本实验的研究,可解决中药降压保健品存在的问题,使保健品的研制开发向着第三代保健品的方向发展,可对保健品行业的发展起着积极的促进作用,实现社会可持续发展。

### 1 仪器与试药

UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津)、金丝桃苷对照品(中国药品生物制品检定所)、其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 提取工艺正交实验设计

根据处方中主要药材的化学成分性质,以及预试验的结果,确定罗银胶囊的提取溶剂为70%乙醇。对影响醇提取工艺的主要因素(煎煮次数、加醇量、煎煮时间)按三因素三水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,以提取液中主要有效成分总黄酮含量和浸膏得率为评价指标,实验结果采用直观分析法和方差分析法综合评价。各因素水平安排见表1。

具体提取方法:称取罗布麻、杜仲叶、银杏叶、决明子、川牛膝共212g,9份,按表1所列的条件,加70%乙醇回流提

\* 基金项目:江西省科技支撑计划(赣科计字[2007]189号)

\*\* 通讯作者:龚建平,男,(1962-),江西南昌人,现任江西中医学院硕士研究生导师。主要从事保健品研究工作。

取,提取液过滤,合并,计算滤液体积,测定有效成分总黄酮含量,同时精密吸取 25 ml,测定浸膏得率。

表1  $L_9(3^4)$  水提正交试验设计表

| 因素水平 | A 煎煮次数/次 | B 加醇量/倍 | C 煎煮时间/h |
|------|----------|---------|----------|
| 1    | 1        | 6       | 1.0      |
| 2    | 2        | 8       | 1.5      |
| 3    | 3        | 10      | 2.0      |

## 2.2 浸膏得率测定方法

照《中华人民共和国药典》(2005年版一部)附录XA浸出物测定法,精密量取正交实验提取液 25 ml,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105℃干燥 3 h,移置干燥器中,冷却 30 min,迅速精密称定重量,以干燥品计算供试品中浸出物的含量。按下列公式计算浸膏得率。

$$\text{浸膏得率} = \frac{\text{浸膏重量}}{25\text{ml 药液相当于药材重量}} \times 100\%$$

## 2.3 总黄酮含量测定方法

因方中主要药物罗布麻、杜仲叶、银杏叶的主要有效大类成分为总黄酮类化合物,该类化合物有扩张血管、改善微循环、降血压等作用,因此选择总黄酮含量作为评价指标进行测定。药材中总黄酮类化合物主要为槲皮素、芦丁、金丝桃苷、山奈酚、异槲皮苷等,预试验结果表明,金丝桃苷与供试品在 510 nm 处均有最大吸收,因此确定金丝桃苷为本次总黄酮含量测定的对照品。

对照品溶液的制备:精密称取 10.024 mg 金丝桃苷对照品,以甲醇溶解定容至 50 ml,作对照品溶液。

标准曲线的制备:分别精密吸取对照品溶液 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00 ml,于 25 ml 容量瓶内,加水 6.00 ml,5% 亚硝酸钠 1.00 ml,混匀,放置 6 min,然后加 10% 硝酸铝 1.00 ml,摇匀,放置 6 min,再加 4% 氢氧化钠 10.00 ml,加水至刻度,摇匀,放置 15 min,以缺对照溶液者为空白对照,分别测定其在 510 nm 处吸收度值,以吸收度为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线,求得回归方程为:  $Y = 21.416X + 0.0071$ ,  $r = 0.9993$ 。

供试品溶液的制备及测定:精密吸取各正交提取液 1.0 ml,于 25 ml 容量瓶内,以下同标准曲线的制备中“加水 6.00 ml,5% 亚硝酸钠 1.00 ml……在 510 nm 处吸收度值”进行测定,计算样品液中总黄酮含量。

总黄酮含量计算方法:根据下列公式,计算各提取液中总黄酮的含量。

$$\text{总黄酮含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{A_{\text{样}}/A_{\text{标}} \times C_{\text{标}} \times A \times 10^3}{M_{\text{样}}(\text{药材总重量})} \times \text{定容体积} \times \text{正交液体积}$$

## 2.4 正交试验测定结果及分析

测定结果见表2;方差分析见3、4。

结果分析:由表2直观分析可知,以浸膏得率和总黄酮含量为指标时,极差(R)最大的为A因素,对提取率的影响排序是:  $A > B > C$ ;同时表3、表4方差分析显示,A、B因素对浸膏得率和总黄酮含量均具有显著性影响,C因素则无显著性影响。因此,确定最佳组合为  $A_3B_3C_1$  (即加 10 倍量 70% 乙醇,煎煮 3 次,每次 1 h)。

表2 水提正交试验结果

|        | A      | B      | C      | D(空白) | 浸膏得率(%) | 总黄酮含量/mg |
|--------|--------|--------|--------|-------|---------|----------|
| 1      | 1      | 1      | 1      | 1     | 11.98   | 163.49   |
| 2      | 1      | 2      | 2      | 2     | 12.12   | 182.45   |
| 3      | 1      | 3      | 3      | 3     | 13.25   | 196.75   |
| 4      | 2      | 1      | 2      | 3     | 15.21   | 245.94   |
| 5      | 2      | 2      | 3      | 1     | 16.19   | 263.44   |
| 6      | 2      | 3      | 1      | 2     | 17.53   | 280.19   |
| 7      | 3      | 1      | 3      | 2     | 19.71   | 307.41   |
| 8      | 3      | 2      | 1      | 3     | 20.49   | 322.08   |
| 9      | 3      | 3      | 2      | 1     | 22.77   | 347.03   |
| 均 I-1  | 12.45  | 15.63  | 16.67  |       |         |          |
| 均 I-2  | 16.31  | 16.27  | 16.7   | 浸膏得率  |         |          |
| 均 I-3  | 20.99  | 17.85  | 16.38  |       |         |          |
| Rj     | 8.54   | 2.22   | 0.32   |       |         |          |
| 均 II-  | 180.9  | 238.95 | 255.25 |       |         |          |
| 均 II-  | 263.19 | 255.99 | 258.47 | 总黄酮含量 |         |          |
| 均 III- | 325.51 | 274.66 | 256.87 |       |         |          |
| Rj     | 144.61 | 35.71  | 3.22   |       |         |          |

表3 浸膏得率方差分析结果

| 因素   | 偏差平方和   | 自由度 | F 值     | F 临界值  | 显著性 |
|------|---------|-----|---------|--------|-----|
| 煎煮次数 | 109.734 | 2   | 602.934 | 19.000 | *   |
| 加醇量  | 7.822   | 2   | 42.978  | 19.000 | *   |
| 煎煮时间 | 0.182   | 2   | 1.000   | 19.000 |     |
| 误差   | 0.18    | 2   |         |        |     |

表4 总黄酮含量方差分析结果

| 因素   | 偏差平方和    | 自由度 | F 值      | F 临界值  | 显著性 |
|------|----------|-----|----------|--------|-----|
| 煎煮次数 | 1418.721 | 2   | 1795.849 | 19.000 | *   |
| 加醇量  | 86.016   | 2   | 108.881  | 19.000 | *   |
| 煎煮时间 | 0.790    | 2   | 1.000    | 19.000 |     |
| 误差   | 0.79     | 2   |          |        |     |

## 2.5 验证试验

根据正交试验结果最终确定的提取工艺方案  $A_3B_3C_1$ , 进行重复 3 次放大提取,按 2.2、2.3 测定指标成分含量。结果表明,按上述工艺生产的 3 批样品,浸膏得率和总黄酮含量均较高,并且稳定,说明该工艺稳定可行。实验测定结果详见表5。

表5 验证结果

| 实验号 | 批量/kg | 浸膏得率(%) | 总黄酮含量/g |
|-----|-------|---------|---------|
| 1   | 10.6  | 19.12   | 3.596   |
| 2   | 10.6  | 19.63   | 3.502   |
| 3   | 10.6  | 19.46   | 3.608   |

## 3 讨论

(1)罗银胶囊含多种黄酮类化合物,主要为槲皮素、芦丁、金丝桃苷、山奈酚、异槲皮苷等。黄酮类化合物多采用硝酸铝比色法测定,对照品多以芦丁为标准,本品在实验过程中发现,金丝桃苷与供试品在 510 nm 处均有最大吸收,峰型较芦丁更为美观,因此确定金丝桃苷为本次总黄酮含量测定的对照品。(2)罗银胶囊的主要有效大类成分为总黄酮类化合物,通过文献可知,该类化合物有扩张血管、改善微循环、降血压等作用,与罗银胶囊的功效相一致,因此选择总黄酮含量作为评价指标进行测定。同时在后期的功能性实验中可进一步的明确两者之间的相关性。

(收稿日期:2009-08-11)