

异黑成熟颗粒醇提取工艺

古孜力努尔·依马木¹, 蒲文², 薛桂蓬³, 邢建国³, 李萧⁴, 阿不都热依木·玉苏甫¹

1. 新疆医科大学维吾尔医药系, 乌鲁木齐 830011
2. 新疆医科大学第一附属医院, 乌鲁木齐 830011
3. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004
4. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011

摘要 为筛选异黑成熟颗粒中甘草、地锦草、铁线蕨和香青兰最佳的醇提取工艺, 采用单因素试验, 以甘草酸含量和醇浸出物量为指标, 对影响提取效果的乙醇浓度 A 、提取时间 B 、乙醇用量 C 和提取次数 D 进行考查, 确定提取次数为 2 次, 选择乙醇浓度为 55%、65%、75%, 乙醇用量为 10、12、14 倍量, 提取时间为 1.0、1.5、2.0h。进一步采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优选甘草、地锦草、铁线蕨和香青兰醇提取条件, 对实验各关键因素变化范围内均衡抽样, 使每次试验都具有较强的代表性。结果表明, 乙醇浓度对提取效果有显著影响, 而提取时间、乙醇用量对提取效果无显著性影响, 最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3$ 。鉴于乙醇用量和提取时间对提取效果无显著性影响, 为降低成本、节省工时, 将 B_2 改为 B_1 , 将 C_3 改为 C_1 , 由此得提取工艺为 $A_2B_1C_1$ 。确定药材醇提取条件: 65%乙醇 10 倍量, 提取 2 次, 每次 1h。由此, 经过正交试验法优选的提取工艺设计合理, 结果稳定可行, 符合大工业生产要求。上述实验结果可为异黑成熟颗粒制备工艺的确定提供实验依据。

关键词 异黑成熟颗粒; 单因素; 正交试验

中图分类号 R29, R392.5

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)15-0079-04

Alcohol Extraction Technology of Abnormal Savda Munziq Granular

IMAM Guzalnur¹, PU Wen², XUE Guipeng³, XING Jianguo³, LI Xiao⁴, YUSUP Abdiryim¹

1. Faculty of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
2. The First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
3. Xinjiang Institute of Materia, Urumqi 830004, China
4. Institute of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract To develop the optimal alcohol extraction technology of Gancao, Dijincao, Tiexianjue in the Abnormal Savda Munziq Granula, with the content and the amount of alcohol extractive of glycyrrhizin as index, single factor experiments were carried out. The four factors that influence the extraction result, the quantity and the concentration of alcohol, the extracting time and the frequency, were optimized. The extracting process is as follows: to extract twice with 55%, 65%, 75% alcohol, of amount of 10, 12, 14 times, 1.0, 1.5 and 2.0 hours each time. Then the $L_9(3^4)$ orthogonal design is used to find the best alcohol extraction technology of Gancao, Dijincao, Tiexianjue, Xiangqinglan. A balanced sampling is adopted in the range of each key factor to make each experiment highly representative. With the well-distributed nature of these factors, the orthogonal layout can ensure all experiments serve their purpose. The results show that the extracting time and amount do not have marked influence but the concentration of alcohol does. Due to the insignificant influence of the amount of alcohol and the extracting time, the optimum extraction technology $A_2B_2C_3$ may be replaced by $A_2B_1C_1$, that is, to extract twice with 65% alcohol, of amount of 10 times, 1 hour each time. The extraction method is reasonable, feasible and convenient to be applied to production. The preparation technology for Abnormal Savda Munziq Granular can be similarly obtained.

Keywords abnormal Savda Munziq granular; single factor; orthogona

收稿日期: 2010-05-25

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技攻关和重点项目(200733146-4); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目; 高等学校科技创新工程重大项目培育资金项目(708058)

作者简介: 古孜力努尔·依马木, 讲师, 研究方向为维吾尔医药基础, 电子信箱: guzalnuryimam@126.com; 阿不都热依木·玉苏甫(通信作者), 研究员, 研究方向为维吾尔医基础理论及新药开发, 电子信箱: ayusup@126.com

异黑成熟颗粒由牛舌草、破布木果、大枣、小茴香、甘草、香青兰、地锦草、铁线蕨等 10 味药组成,其主要药味均为维吾尔药,为抗肿瘤辅助药。本品原方以汤剂在临床上使用多年,疗效确切,对由异常黑胆质所导致的各种肿瘤有良好的预防和治疗作用^[1-2]。由于原生产工艺落后,不便携带,不易储存,不符合中药现代化发展的要求,现将其制备成便于患者使用、携带和储存的颗粒剂,并且固体制剂的稳定性也优于液体制剂。为保证制剂质量稳定,本文对异黑成熟颗粒中甘草、地锦草、铁线蕨和香青兰醇提取工艺进行了研究,筛选出合理可行的提取工艺。

1 材料与方

1.1 材料和主要仪器

材料为甘草酸铵对照品(批号:110731-200614,中国生物制品检定所),色谱纯甲醇(美国 Fisher A452-4),醋酸铵(上海试四赫维化工有限公司 050323),冰醋酸(天津市福晨化学试剂厂 20060920)。

主要仪器有 PD-10SAVP 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),BS1101S 电子天平(北京赛得利斯天平有限公司),R-2010 型旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限责任公司),101A-2 型数显电热鼓风干燥箱(上海锦屏仪器仪表有限公司通州分公司),KQ-100DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),KDM 型调温电热套(山东省鄄城永兴仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 甘草酸含量测定

按照高效液相色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VID)^[3]测定。

1) 色谱条件与系统适用性试验^[4]。色谱柱:Kromasil C₁₈(4.6mm×200mm);检测波长为 250nm;流动相:甲醇-0.2mol/L 醋酸铵-冰醋酸(53:46:1.3);流速:1.0mL/min;柱温:40℃;理论塔板数按甘草酸峰计算应不低于 2000。

2) 对照品溶液制备。精密称取甘草酸单铵盐对照品 10mg,置 50mL 量瓶,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

3) 供试品溶液制备。取提取液上清液用微孔滤膜(0.45μm)过滤,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10μL,注入液相色谱仪测定,即得。

1.2.2 醇浸出物量测定

精密量取提取液 100mL,置干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,105℃烘箱干燥 3h,取出,迅速置干燥器中冷却,称重,重复 3 次,计算。

1.2.3 考查指标和方法

对甘草酸含量和醇浸出物量进行综合评价(权重系数为 0.8、0.2),以综合评分筛选最佳提取条件。

$$\text{综合评分} = (\text{甘草酸含量}/\text{最大甘草酸含量}) \times 80 + (\text{醇浸出物量}/\text{最大醇浸出物量}) \times 20$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验

按处方比例甘草 10g、地锦草 7g、香青兰 7g 和铁线蕨 7g 称取药材,对乙醇浓度 A(55%、65%、75%、85%)、提取时间 B(0.5、1.0、1.5、2.0h)、乙醇用量 C(8、10、12、14 倍)、提取次数 D(1、2、3、4 次)进行考查,滤液定容至 1000mL,测定甘草酸提取率和醇浸出物量,结果见表 1~表 4。

表 1 乙醇浓度单因素分析

Table 1 Determination of the alcohol concentration by using single-factor test

乙醇浓度/%	甘草酸提取率/%	醇浸出物量/%	综合评分
55	77.53	24.29	97.99
65	79.53	24.22	99.94
75	78.25	22.65	97.36
85	56.83	20.84	74.32

表 2 提取时间单因素分析

Table 2 Determination of the extraction frequency by using single-factor test

提取时间/h	甘草酸提取率/%	醇浸出物量/%	综合评分
0.5	77.70	24.01	96.50
1.0	80.93	24.19	99.84
1.5	81.07	24.18	99.97
2.0	80.97	24.22	99.90

表 3 乙醇用量单因素分析

Table 3 Determination of the alcohol amount by using single-factor test

乙醇用量/倍数	甘草酸提取率/%	醇浸出物量/%	综合评分
8	77.63	23.37	96.75
10	77.86	24.11	97.56
12	79.09	24.23	98.90
14	79.14	25.57	100.00

表 4 提取次数单因素分析

Table 4 Determination of the extractive time by using single-factor test

提取次数	甘草酸提取率/%	醇浸出物量/%	综合评分
1	76.48	24.01	95.16
2	78.75	24.85	98.09
3	79.55	25.59	99.47
4	80.08	25.50	99.93

从表 1 可知,随乙醇浓度的增大,综合评分呈现先增加后降低的趋势。当乙醇浓度为 65%时,综合评分最高,55%时次之,因而选择 55%、65%、75%这 3 个浓度水平进一步安排



正交考查。由表 2 可见, 醇提 1.0、1.5、2.0h 甘草酸含量均较高, 结合醇浸出物量, 所以选择 1.0、1.5、2.0h 3 个时间水平进一步安排正交考查。从表 3 可知, 随乙醇用量增大, 综合评分也逐步增大, 14 倍与 12 倍提取率接近, 10 倍次之, 8 倍最小, 经综合考虑, 最终选择 10、12、14 倍量 3 个水平进一步安排正交试验考查。由表 4 可见, 提取 4 次时提取率最高, 但 2 次与 3、4 次数值相差较小, 从节约成本和工时考虑, 故选择醇提取 2 次。

2.2 正交试验

按处方比例称取各药材, 提取后, 滤液定容至 1000mL,

分别测定甘草酸提取率和醇浸出物量。因素及水平见表 5, 试验安排见表 6, 方差分析见表 7。

表 5 试验因素水平表
Table 5 Level-factors table

水平	因素		
	A/%	B/h	C/倍数
1	55	1.0	10
2	65	1.5	12
3	75	2.0	14

表 6 $L_9(3^4)$ 正交实验设计及结果
Table 6 $L_9(3^4)$ results of orthogonal design

实验号	各因素水平				评价指标		
	A	B	C	D	甘草酸含量/%	醇浸出物量/%	综合评分
1	1	1	1	1	70.02	24.31	86.50
2	1	2	2	2	74.40	24.42	90.75
3	1	3	3	3	73.71	24.36	90.05
4	2	1	2	3	80.96	24.22	96.82
5	2	2	3	1	84.13	24.12	99.75
6	2	3	1	2	83.04	24.15	98.74
7	3	1	3	2	75.62	22.56	90.39
8	3	2	1	3	76.25	22.67	91.07
9	3	3	2	1	75.94	22.43	90.58
K_1	267.29	273.71	276.31	276.83			
K_2	295.32	281.57	278.15	279.87			
K_3	272.04	279.37	280.19	277.94			
极差	28.02	7.86	3.88	3.04			

注: K_1 、 K_2 、 K_3 分别表示各因素水平对应的综合评分。

Notes: K_1 , K_2 , K_3 indicate the level of the factors corresponding to composite evaluation.

表 7 方差分析表
Table 7 Variance analysis

处理因素	方差来源				P
	离均差平方和	自由度	均方	F 检验	
A	149.9668	2	74.9834	95.11591	<0.05
B	10.97135	2	5.485674	6.958539	
C	2.509485	2	1.254742	1.591632	
误差	1.576674	2	0.788337		
总变异	165.0243	8			

注: F 检验临界值, $F_{0.05(2, 2)}=19.0$ 。

Note: F test critical value, $F_{0.05(2, 2)}=19.0$.

由直观分析可知, 影响提取效果的因素顺序是: $A>B>C$ 。每个因素 3 个水平之间从优到劣为 $A_2>A_3>A_1$; $B_2>B_3>B_1$; $C_3>C_2>C_1$, 直观分析最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3$ 。采用方差分析进一步优化。

由方差分析知, 乙醇浓度对提取效果有显著影响, 而提取时间、乙醇用量对提取效果无显著性影响, 最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3$ 。鉴于乙醇用量和提取时间对提取效果无显著性影响, 为降低成本、节省工时, 将 B_2 改为 B_1 , C_3 改为 C_1 , 由此得



提取工艺 $A_2B_1C_1$ 。确定药材醇提条件:65%乙醇 10 倍量,提取 2 次,每次 1h。

进行验证试验,结果与正交试验结果一致,表明此工艺稳定可行。

3 讨论

1) 本处方复杂,各药味有效成分理化性质各异^[5],应按照各味药与功能主治相关的有效成分进行提取,故将铁线蕨^[6]、地锦草^[7]、甘草^[8]和香青兰^[9]进行乙醇提取,对大枣、牛舌草、刺糖和破布木果进行水提取。这样可较好地提取有效成分并保留药物的药理活性物质,从而保证药效的发挥。

2) 在单因素基础上又对提取工艺进行正交试验考查,充分地考虑到各种因素之间的交互影响,最终确定了最佳提取工艺条件,验证实验结果表明优选的提取工艺稳定可行。

4 结论

利用正交试验优化异黑成熟颗粒的最佳提取工艺是铁线蕨、地锦草、甘草和香青兰用乙醇提取,条件为:65%乙醇 10 倍量,提取 2 次,每次 1h。

参考文献 (References)

- [1] 哈木拉提·吾甫尔,阿不都热依木·玉苏甫. 维医气质、体液论及其现代研究[M]. 乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2003.
Upur Halmurat, Yusup Abdiryim. Theory of mizaj and hilit in Uighur medicine and modern study [M]. Urumqi: Xinjiang Scientific and Technical Publisher, 2003.
- [2] 哈木拉提·吾甫尔,阿不都热依木·玉苏甫. 维吾尔医异常黑胆质新论[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,2009: 4.

- Upur Halmurat, Yusup Abdiryim. Theory of abnormal savda in Uighur medicine[M]. Urumqi: Xinjiang People Publishing House, 2009: 4.
- [3] 郑筱萸. 中华人民共和国药典 2005 版 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
Zheng Xiaoyu. Chinese pharmacopoeia [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [4] 杜学勤, 刘焕蓉, 郭志强, 等. 高效液相色谱法测定水煎法提取中成药中的甘草酸含量[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(4): 812-814.
Du Xueqin, Liu Huanrong, Guo Zhiqiang, et al. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2007, 18(4): 812-814.
- [5] 中国医学百科全书蒙医学编辑委员会. 中国医学百科全书 (蒙医学) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 182.
Chinese Medicine Encyclopedia Mongolia Medicine Editorial Board. China medical encyclopedia book (traditional mongolian medicine)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1992: 182.
- [6] 丁利君. 微波协同提取铁线蕨总黄酮及其抗氧化研究[J]. 韩山师范学院学报, 2006, 27(6): 46-52.
Ding Lijun. Journal of Hanshan Normal College, 2006, 27(6): 46-52.
- [7] 巴根那, 赵贤芳, 白玉傲, 等. 蒙药地锦草总黄酮提取工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(4): 252-253.
Ba Genna, Zhao Shufang, Bai Yuao, et al. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 1999, 10(4): 252-253.
- [8] 曾路, 张如意, 王动, 等. 粗毛甘草化学成分的研究 [J]. 植物学报, 1991, 33(2): 124, 135.
Zeng Lu, Zhang Ruyi, Wang Dong, et al. Acta Botanica Sinica, 1991, 33 (2): 124, 135.
- [9] 古海锋, 陈若芸, 孙玉华, 等. 香青兰化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(3): 232-235.
Gu Haifeng, Chen Ruyun, Sun Yuhua, et al. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2004, 29(3): 232-235.

(责任编辑 吴晓丽)

·学术动态·



“第十一届全国土壤微生物学术讨论会”征文

中国微生物学会、中国土壤学会等将于 2010 年 10 月 18—21 日在长沙市举办“第十一届全国土壤微生物学术讨论会”。会议以“技术创新与发展”为主题,交流近几年土壤(农业)微生物学研究和微生物肥料等产业发展的技术与应用成果,研讨下一阶段土壤(农业)微生物学的发展方向与重点。

征文内容:土壤微生物和生物固氮研究的新进展;植物与微生物相互作用机理的研究;土壤生物与生物化学研究新进展;微生物在土壤与环境治理方面的研究进展;微生物肥料产品与技术创新研究与成果;微生物肥料产业发展政策和质量标准体系建设;微生物肥料研发、效果评价与关注热点;农业生物产业与农产品质量安全。

征文截止时间:2010 年 9 月 20 日。

联系方式:北京市海淀区中关村南大街 12 号(100081);电话:010-82106208;传真:010-82108702;电子信箱:dlshen@caas.ac.cn。

会议网址:<http://csm.im.ac.cn/html/xuehuitongzhi/20091222/310.html>。