

金黄1号茶剂提取工艺研究*

Research of the Extraction Process and Technique of Medicinal Tea Jinhuang No. 1

赖茂祥¹, 刘华钢², 覃兰芳¹

LAI Mao-xiang, LIU Hua-gang, QIN Lan-fang

(1. 广西中医药研究所, 广西南宁 530022; 2. 广西医科大学, 广西南宁 530021)

(1. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China)

摘要:以浸膏量和绿原酸含量为检测指标, 采用正交试验方法对金黄1号茶剂的制备工艺进行优选。结果得出, 采用水提法制备, 将金黄1号的四味药材(黄芪、金银花、浮小麦、大枣)打成粗粉, 按比例称量(金银花取半量, 另一半备用), 加入10倍量水, 煎煮提取2次, 每次1.5h, 合并煎煮液, 过滤, 滤液浓缩至相对密度为1.15~1.20的稠膏, 加入另一半金银花粗粉, 混合均匀, 烘干, 粉碎, 装袋, 即得。该工艺合理、简便, 适合大批量生产。

关键词:金黄1号 提取工艺 正交试验

中图分类号:R283 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-9164(2006)02-0130-03

Abstract: Taking the contents of extract and chlorogenic acid as indexes, the optimum conditions for the extraction of Jinhuang No. 1 were studied by orthogonal experimental design. The result was that Jinhuang No. 1 was extracted with water, the optimum extraction process was as follows: smashed the four drugs (*Astragalus membranaceus*, *Lonicera japonica*, *Triticum aestivum*, *Ziziphus jujuba*) of Jinhuang No. 1 separately into coarse powder and weighted in proportion, divided *Lonicera japonica* Thunb. into two equal portions, mixed one portion with three other drugs coarse powder, added 10 times portion of water, boiled twice, 1.5h each. Put together the filtrate of above, the filtrate was concentrated to relative density of 1.15~1.20, added the rest portion of *L. japonica* Thunb., mixed well, dried, smashed and stuffed in the package. This optimized process is simple, reasonably designed and good for mass production.

Key words: Jinhuang No. 1, extracting technology, orthogonal test

SARS (Severe acute respiratory syndrome, 非典型性肺炎)病毒是一种新病毒, 在人的免疫系统的档案中尚无记录。面对 SARS, 在人类还未找到疫苗和有效药物的情况下, 最有效与之对抗的就是人体自身的免疫系统。金黄1号就是专门为 SARS 设计的中药处方, 为 SARS 流行期间广西科学技术厅重点资助研究的科技攻关项目, 处方由黄芪、金银花、浮小麦、大枣组成。其药效能增强人体抗体的形成和干扰素的产生, 起到扶正祛邪的作用, 合理服用有助于抗 SARS。

该处方汤剂曾在 SARS 流行时用作预防和辅助治疗, 表现出了良好的效果。

金黄1号处方量较大, 提取物较多, 考虑到服用量的问题, 所以将该药方制成复方茶剂。又由于茶剂是以水作为溶媒, 且处方药中大部分有效成分均可溶解于水^[1,2], 本实验主要考察了水煎煮提取时的各种因素与条件。

1 试验部分

1.1 仪器

日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪、SPD-10A VP 紫外可见光检测器、UV-1601 紫外分光光度计。

收稿日期: 2005-12-13

作者简介: 赖茂祥(1953-), 男, 广西灵山县人, 副研究员, 主要从事新药开发和生药学研究。

* 广西科技攻关项目(桂科攻0332007)。

1.2 试药

绿原酸对照品:绿原酸 (*Chlorogenic Acid*), 供含量测定用, 批号: 110753-200212, 中国药品生物制品检定所提供, 经纯度检测符合定量要求, 纯度为 99.39%。

甲醇为色谱纯, 水为高纯水, 其它试剂均为分析纯。金黄1号、缺金银花的阴性对照样品由广西中医药研究所提供。各处方药均购自南宁市药材公司, 经广西中医药研究所中药研究室鉴定。黄芪为豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mengholicus* (Bge.) Hsiao] 的干燥根, 质量标准符合《中华人民共和国药典》2005年版一部第212页黄芪项下的有关规定; 金银花为忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 的干燥花蕾, 质量标准符合《中华人民共和国药典》2005年版一部第152页金银花项下的有关规定; 浮小麦为禾本科植物小麦 (*Triticum aestivum* L.) 的干瘪轻浮的干燥颖果, 历代本草均有记载; 大枣为鼠李科植物枣 (*Ziziphus jujuba* Mill.) 的干燥成熟果实, 质量标准符合《中华人民共和国药典》2005年版一部第16页大枣项下的有关规定。

1.3 方法

1.3.1 提取工艺研究

根据处方药中各味中药材所含的主要活性成分多为水溶性物质, 因此本品提取工艺以水煎煮的方法进行提取, 选择影响水提取效率的药材粉碎度、加水量、提取时间和提取次数为考察因素, 以提取出的金银花中有效成分绿原酸总量为考察指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计进行正交试验。因素水平设计见表1。

表1 水提取工艺正交试验因素水平

Table 1 The water extraction process factors of orthogonal test

水平	A: 药材粉碎度 Smash degree of drugs	B: 加水量 Water supplying quantity	C: 提取时间 Extracting time (h)	D: 提取次数 Extracting times
1	中药饮片 Slice	8	1.0	1
2	粗粉 Coarse powder	10	1.5	2
3	细粉 Fine powder	12	2.0	3

1.3.2 浸膏测定

按处方量称取要煎煮的黄芪90g, 金银花24g(半量), 浮小麦36g, 大枣60g(总共9份)。按正交试验进行9次煎煮试验, 将每次试验的煎液过滤, 合并煎煮液, 定容后, 分别精密量取20ml 滤液, 置于已干燥至恒重的蒸发皿中, 在水浴上蒸干后, 于105℃干燥3h, 移置

到干燥器中冷却30min, 迅速称定重量, 并换算成干浸膏的全量。

1.3.3 绿原酸含量测定

1.3.3.1 色谱条件

色谱柱: 日本 Shim-pack C18 (5 μ m, 4.6mm \times 250mm); 流动相为甲醇-水-冰乙酸(20:80:1); 柱温为25℃; 流速为1.0ml/min, 检测波长为326 nm; 进样量为20 μ l。在选定条件下, 绿原酸与样品中的其它组分色谱峰可基线分离, 绿原酸峰保留时间为10~12 min, 且与相邻色谱峰的分离度大于3.0; 理论板数(n)按绿原酸峰计算应不低于3000。

1.3.3.2 对照品溶液制备

精密称取绿原酸对照品10.0mg, 置于10ml 棕色量瓶中, 加入50%甲醇至刻度处, 摇匀, 制成每1ml 含绿原酸1.0mg 的绿原酸对照品储备液 I; 精密吸取3.0ml 绿原酸对照品储备液 I 置于25ml 棕色量瓶中, 加入50%甲醇至刻度处, 摇匀, 制成每1ml 含绿原酸0.12mg 的绿原酸对照品储备液 II; 精密吸取1.0ml 绿原酸对照品储备液 II 置于10ml 棕色量瓶中, 加入50%甲醇至刻度处, 摇匀, 制成每1ml 含绿原酸12 μ g 的绿原酸对照品溶液。

1.3.3.3 线性关系考察

取绿原酸对照品储备液 II (浓度为0.12mg/ml), 精密吸取2.0ml 置于10ml 棕色量瓶中, 加入50%甲醇至刻度处, 摇匀, 制成每1ml 含绿原酸24 μ g 的绿原酸对照品储备液 III, 取绿原酸对照品储备液 III 分别进样2 μ l、6 μ l、10 μ l、14 μ l、18 μ l 记录绿原酸峰面积值。以对照品峰面积(Y)为纵坐标, 以进样量(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 得线性回归方程为 $Y = 2.14 \times 10^4 + 2.77 \times 10^6 X$ (X为进样量, 单位 μ g), 相关系数 $r = 0.9995$ 。

1.3.3.4 供试品溶液的制备

精密称取干浸膏粉末1g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入50%甲醇50ml, 称重, 超声处理30min, 放冷至室温, 再称重, 用甲醇补足损失的份量, 滤过, 精密吸取续滤液3ml, 置于25ml 棕色量瓶中, 加入50%甲醇至刻度处, 摇匀, 用0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

1.3.3.5 阴性对照试验

取缺金银花的提取物1.0g, 按样品测定项下方法进行提取, 制备缺金银花的阴性对照溶液, 进样测定。在1.3.3.1的色谱条件下, 缺金银花阴性的对照溶液, 在绿原酸色谱峰处无干扰峰出现, 被测成分无干扰, 绿原酸含量测定方法可行。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果

将正交试验所得的干浸膏,研成细粉,按1.3.3.4项下的方法制成供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各20 μ l,按上述色谱条件,注入色谱仪,各进样2次,测定,按峰面积值用外标法计算含量,取其平均值。结果见表2和表3。

表2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test result

试验编号 No.	浸膏量 Total extract quantity (g)	浸膏中绿 原酸含量 Chlorogenic acid content in extract(%)	绿原酸总量 Total quantity of chlorogenic acid(mg)
1	16.28	4.01	65.28
2	29.39	4.47	131.37
3	31.09	4.36	135.55
4	30.24	4.42	133.66
5	19.46	4.74	92.24
6	30.03	4.50	135.14
7	29.60	4.59	135.86
8	30.45	4.41	134.29
9	20.09	4.35	87.39

表3 正交试验结果分析

Table 3 Orthogonal test analysis

	药材粉碎度 Smash degree of drugs	加水倍数 Water supplying quantity	提取时间 extracting time(h)	提取次数 Extracting times
收率	332.20	334.80	287.81	244.91
	361.04	357.90	399.32	402.37
	357.54	358.08	363.65	403.50
极差 R	28.84	23.28	111.51	158.59

表2和表3的结果表明,影响极差 R 大小的因素顺序为提取次数>提取时间>药材粉碎度>加水量。由直观分析可知,最佳工艺条件为 A₂B₃C₂D₃,其次为 A₂B₂C₂D₂。从上表分析结果看,B₃仅较 B₂多0.06,但要多用2倍水。再看 D₃仅较 D₂多0.38,但要多提取1次。因此,为了节约能源和生产成本,降低劳动强度,缩短生产周期等,本品生产工艺应该选择 A₂B₂C₂D₂,但由于该提取工艺条件在上述9次正交试验中是没有的。为了验证该提取工艺搭配条件的可靠性和稳定性,我们将经过正交试验优选得到的上述二种工艺条件 A₂B₃C₂D₃和 A₂B₂C₂D₂进行了三批确认性试验,结

果(表4)表明,两种工艺条件的提取收率相对稳定,二者平均提取率相差也只有0.48%,但两种不同工艺的能源消耗与生产成本相差非常大,为了节约成本,缩短生产周期,降低危险程度与劳动强度,提高经济效益,我们选择了 A₂B₂C₂D₂的工艺条件,即药材为粗粉,加10倍量水,煎煮提取2次,每次1.5h。

表4 两种工艺条件确认性试验结果

工艺条件 Condition	投料量 Material Supplying quantity (g)	浸膏量 Total extract quantity (g)	浸膏中绿原酸含量 Total content of chlorogenic acid in extract(%)	绿原酸总量 quantity of chlorogenic acid (mg)
A ₂ B ₃ C ₂ D ₃	210	31.10	4.48	139.33
	210	30.56	4.39	134.16
	210	30.37	4.52	137.27
A ₂ B ₂ C ₂ D ₂	210	30.42	4.56	138.72
	210	30.66	4.43	135.82
	210	29.95	4.50	134.78

2.2 金黄1号的制备工艺

经过正交试验分析,本品制备工艺确定为:将四味处方药分别粉碎成粗粉,按比例称量,其中金银花为半量,另一半金银花粗粉备用。加入10倍量水,煎煮提取2次,每次1.5h,合并煎煮液,过滤,滤液浓缩至相对密度为1.15~1.20的稠膏,加入另一半金银花粗粉,混合均匀,烘干,粉碎,装袋,即得。

3 结束语

从上述正交试验结果看出,同一批药材,在同样实验条件下,中药材破碎程度不同,测得的有效成分含量相差较大。药块过大,影响有效成分渗出,而粉碎过于细小,在加热提取过程中因受热不均匀而容易焦糊,且过滤困难,致使有效成分损失。因此,中药材在提取前应当进行破碎,以提高有效成分提取率。

参考文献:

- [1] 杨云,张晶.天然药物化学成分提取分离手册[M].北京:中国中医药出版社,2002.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:精选本,下册[M].上海:上海科学技术出版社,1998.

(责任编辑:邓大玉)