

正交设计优选黄芩栀子合煎工艺

黄琪^{1,2}, 刘慧², 陈建红^{2,3}, 吴德玲¹, 顾雪竹², 麻印莲², 张村²

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽合肥 230012; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 3. 河南中医学院药学院, 河南郑州 450008)

[摘要]目的 正交设计优选黄芩栀子合煎工艺。**方法** 采用正交试验法, 考察加水量、煎煮时间、煎煮次数对黄芩、栀子合煎液中栀子苷含量、黄芩苷含量及干膏得率的影响。**结果** 优选出的最佳提取工艺为: 加8倍量水, 提取3次, 每次0.5 h。**结论** 所优选的工艺稳定、合理、可行, 可为合理开发含有黄芩、栀子药对的复方制剂提供理论依据。

[关键词] 黄芩; 栀子; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R284 **[DOI]** 10.3969/j.issn.2095-7246.2015.02.026

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi. 的干燥根, 具有清热燥湿、泻火解毒的功效; 栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis. 的干燥果实, 具有清热利湿、凉血解毒的功效。黄芩与栀子为临床常用药对, 常配伍应用于许多中药复方中。二药相须, 黄芩得栀子之助, 清肺中伏火之力倍增, 栀子得黄芩之伍, 利湿退黄、清肝止血之效更佳, 二者降泄同施, 气血并治, 不但能清三焦、宁肺火、止血热、退黄疸, 而且能清解肝经郁火。黄芩、栀子常配伍使用以增强清热祛湿的功效。经典方剂黄芩清肺汤、黄芩栀子汤^[1]、黄芩汤等都含有黄芩、栀子药对, 主治肺热所致的咳喘、下焦热结、小便不通等症^[2]。

现代研究表明, 黄芩中主要成分黄酮类成分和栀子中主要成分环烯醚萜类成分大多具有较好的生理活性^[3-4]。为更好地开发研究含有黄芩、栀子药对的经典方剂, 本实验采用正交试验法优化黄芩、栀子药对合煎的提取工艺。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81173553)

作者简介: 黄琪(1988-), 男, 硕士, 助教

通信作者: 张村, zhc95@163.com

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津高效液相色谱仪(LC-20AT泵, SPDM20A PDA检测器, CTO-10AS柱温箱); FA2204B型万分之一电子天平; 上海赛德利斯精密仪器有限公司。

1.2 试剂 纯净水: 杭州娃哈哈集团公司; 甲醇、乙腈: 均为色谱纯。黄芩苷对照品: 中国食品药品检定研究院, 批号 110715-201117; 栀子苷对照品: 中国食品药品检定研究院, 批号 110749-201115。

1.3 药材 黄芩产地为河北, 栀子产地为江西。药材均购于安徽亳州沪谯中药饮片科技公司, 经中国中医科学院中药研究所张村研究员鉴定黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi. 的干燥根, 栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis. 的干燥果实。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计 取黄芩 20 g、栀子(粉碎成粗颗粒)10 g。通过预实验结果, 分别选定水提的3个因素加水量(A)、煎煮时间(B)、煎煮次数(C), 以黄芩苷浓度和栀子苷浓度及干膏得率为指标, 按 $L_9(4^3)$ 正交试验表进行实验。见表1。

2.2 煎煮液中黄芩苷和栀子苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 ①黄芩苷测定的色谱条件: 按

topography. For chromatography, octadecyl silane was used as the filler; a mixture of acetonitrile and phosphoric acid (0.2%) was applied as the mobile phase (4:96); the flow rate was 1.0 mL/min; the detection wavelength was 270 nm. **Results** The results of TLC showed that the relevant spots were clear and well-defined without interference in the negative controls. The concentration of gallic acid showed a good linear relationship with peak area within 5.349-213.962 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.9998$). The average recovery rate was 98.48% (relative standard deviation 0.80%). **Conclusion** The qualitative and quantitative methods developed in this study are simple, accurate, reliable, and repeatable.

[Key words] Xiangfu Granule; thin-layer chromatography; gallic acid; high-performance liquid chromatography

表1 黄芩、栀子配伍煎煮工艺优选因素水平表

水平	A/倍数	B/h	C/次
1	8	0.5	1
2	10	1.0	2
3	12	1.5	3

《中华人民共和国药典》2010版(一部)黄芩项下要求,选用流动相为0.2%磷酸-水(47:53),进样量10 μL ,检测波长为278 nm,柱温35 $^{\circ}\text{C}$,流速1.0 mL/min.

②栀子苷测定的色谱条件:按《中华人民共和国药典》2010版(一部)栀子苷含量测定项下要求,流动相为乙腈:水(15:85),进样量10 μL ,检测波长为238 nm,柱温35 $^{\circ}\text{C}$,流速1.0 mL/min.实验结果见图1、表2.

2.2.2 溶液制备 ①对照品溶液的制备:分别精密

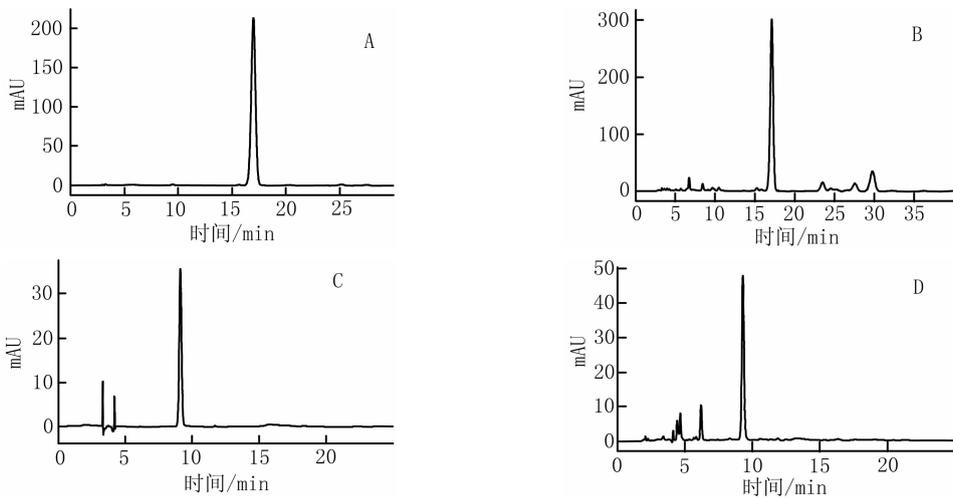


图1 黄芩苷对照品(280 nm)(A)、黄芩栀子合煎液(280 nm)(B)、栀子苷对照品(238 nm)(C)和黄芩栀子合煎液(238 nm)(D)高效液相色谱图

2.3 合煎液样品中干膏得率的测定 从各试验样品中精密移取合煎液5 mL,置干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干,再置于105 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥3 h,转移至干燥器中放凉30 min,精密称定质量.实验结果见表2.

2.4 结果分析 正交试验结果原始数据见表2,正交试验结果的描述性统计见表3.采用一般线性模型对3个因素的主效应进行方差分析,结果见表4.由方差分析结果可知,以干膏得率和黄芩苷含量为指标时,煎煮次数的主效应具有统计学意义,且 $C > B > A$;以栀子苷含量为指标时,煎煮次数的主效应也具有统计学意义,且 $C > A > B$.综合分析,只有煎煮次数对煎煮工艺产生显著性影响,本着经济合理的原则,选择最佳煎煮方案为 $A_1B_1C_3$,即加8倍量的水,加热回流3次,每次0.5 h.

称取经五氧化二磷减压干燥器中干燥至恒质量的黄芩苷和栀子苷对照品适量,精密称定,用甲醇超声溶解,分别制成含黄芩苷0.239 mg/mL、栀子苷0.030 2 mg/mL的对照品溶液.②供试品溶液的制备:取黄芩20 g、栀子(粉碎成粗颗粒)10 g,置于圆底烧瓶中,按正交试验表,热回流提取.纱布过滤提取液,将提取液减压浓缩至约100 mL,转移置100 mL容量瓶中,加蒸馏水至刻度,摇匀.精密量取1 mL置10 mL容量瓶,加水至刻度,摇匀,过0.22 μm 微孔滤膜滤过,备用.

2.2.3 黄芩苷和栀子苷的含量测定 分别吸取黄芩苷对照品溶液、栀子苷对照品溶液及供试品溶液各10 μL ,注入高效液相色谱仪,进行测定.高效液相色谱图谱见图1.

表2 正交试验结果

试验号	因素			干膏得率/%	栀子苷/(mg/g)	黄芩苷/(mg/g)
	A	B	C			
1	1	1	1	26.50	26.5	99.5
2	1	2	2	37.49	35.1	140.5
3	1	3	3	44.09	37.5	161.5
4	2	1	2	37.72	33.2	139.5
5	2	2	3	42.40	40.1	157.0
6	2	3	1	29.41	28.7	108.5
7	3	1	3	41.97	38.3	151.5
8	3	2	1	30.61	34.4	112.5
9	3	3	2	41.96	38.2	154.5

2.5 验证试验 为考察上述优选工艺的稳定性,按该工艺条件进行验证试验($n=3$),分别测定栀子苷浓度、黄芩苷浓度和干膏得率.实验结果表明,该工艺合理,重现性较好.见表5.

表3 正交试验结果的描述性统计

因素	干膏得率/%				栀子苷/(mg/g)				黄芩苷/(mg/g)			
	1水平之和	2水平之和	3水平之和	全距	1水平之和	2水平之和	3水平之和	全距	1水平之和	2水平之和	3水平之和	全距
A	108.08	109.53	114.54	6.46	99.1	102.0	110.9	11.8	401.5	405.0	418.5	13.5
B	106.19	110.50	115.46	9.27	98.0	109.6	104.4	11.6	390.5	410.0	424.5	34.0
C	86.52	117.17	128.46	41.94	89.6	106.5	115.9	26.3	320.5	434.5	470.0	149.5

表4 正交试验结果的方差分析

指标	方差来源	偏差平方和	自由度	F值	P值
干膏得率	A	7.659	2	3.629	0.216
	B	14.346	2	6.797	0.128
	C	313.983	2	148.759	0.007
栀子苷浓度	A	25.207	2	13.850	0.067
	B	22.507	2	12.366	0.750
	C	118.407	2	65.059	0.015
黄芩苷浓度	A	2.149	2	1.694	0.371
	B	7.762	2	6.117	0.141
	C	162.696	2	128.219	0.008

表5 验证试验结果

次数	干膏得率/%	栀子苷浓度/(mg/g)	黄芩苷浓度/(mg/g)
1	43.57	38.7	159.3
2	42.78	38.5	158.9
3	43.03	37.9	159.6

3 讨论

黄芩和栀子均为清热燥湿类药物,两者常相须为用,以增强其清热之功。本研究采用正交试验法优选黄芩、栀子药对合煎工艺,为含有黄芩、栀子药

对复方药物的制备工艺提供一定的实验依据。栀子苷和黄芩苷的含量测定方法参照2010版《中华人民共和国药典》^[5],该方法可直接用于测定样品中两种成分的含量。另外,经验证试验表明,该工艺稳定性好,提取率较高,所优选的黄芩、栀子合煎工艺可为后续合理开发黄芩清肺汤等含有黄芩、栀子药对的复方制剂提供一定理论依据。

参考文献:

- [1] 元·罗天益. 卫生宝鉴[M]. 北京:人民卫生出版社, 1987:271.
- [2] 周述华. 常用相须药对应用探讨[J]. 云南中医学院学报, 1998, 21(S1):53-56.
- [3] 刘英学,刘中刚,苏兰,等. 黄芩化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2009, 19(1):59-62.
- [4] Yu Y, Xie ZL, Gao H, et al. Bioactive iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides*[J]. J Nat Prod, 2009, 72(8):1459-1464.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:282.

(收稿日期:2014-08-23;编辑:张倩)

Optimization of Mixed Decoction Technology for *Scutellaria baicalensis* and *Gardenia jasminoides* by Orthogonal Design

HUANG Qi^{1,2}, LIU Hui², CHEN Jian-hong^{2,3}, WU De-ling¹, GU Xue-zhu², MA Yin-lian², ZHANG Cun²

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. School of Pharmacy, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Henan Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective** To optimize the mixed decoction technology for *Scutellaria baicalensis* and *Gardenia jasminoides* by orthogonal design. **Methods** An orthogonal test was performed to investigate the influences of the amount of water, decocting time, and times of decoction on the content of geniposide and baicalin and the yield of dry extract from the mixed decoction solution of *Scutellaria baicalensis* and *Gardenia jasminoides*. **Results** The optimized extraction process was as follows: adding water (8 times), and extracting 3 times (0.5 h each time). **Conclusion** The optimized process is stable, reasonable, and feasible. This study can provide a theoretical basis for the development of compound preparation of *Scutellaria baicalensis* and *Gardenia jasminoides*.

[Key words] *Scutellaria baicalensis*; *Gardenia jasminoides*; orthogonal test; extraction process