

肾衰泄浊颗粒中大黄、川芎提取工艺研究

★ 曾荣香 杨安全 孙栋梁 (江西中医学院附属医院 南昌 330006)

关键词:肾衰泄浊颗粒;大黄;川芎;提取工艺;1,8-羟基蒽醌;盐酸川芎嗪

中图分类号:R 284.2 文献标识码:A

肾衰泄浊颗粒具有补益脾肾、泄浊解毒的功效,临床用于慢性肾功能衰竭的治疗,取得满意疗效。生大黄及川芎是方中的主药,本研究应用正交试验设计,以吸光度值作为评价指标,考察大黄乙醇渗漉提取的最佳工艺条件;用乙醇回流法对川芎提取工艺条件进行优选。

1 材料与仪器

1,8-二羟基蒽醌对照品、盐酸川芎嗪对照品购自中国药品生物制品检定所;大黄、川芎药材均经我院药剂科鉴定并提供(购自南昌市医药公司);其它试剂均为分析纯。TU-1221 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);电热恒温水浴锅(江苏省医疗器械厂)。

2 试验方法与结果

2.1 大黄正交试验设计方案

2.1.1 因素水平 试验选择乙醇渗漉工艺中影响较大的三个因素:乙醇加入量(A)、乙醇浓度(B)、渗漉速度(C)作为考察对象,每个因素取三个水平(见表 1),以提取物中游离蒽醌含量为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验(见表 2),方差分析见表 3。

表 1 大黄试验因素水平表

水 平	因 素		
	A 乙醇用量 /倍	B 乙醇浓度 (%)	C 渗漉速度 /ml·min ⁻¹
1	8	60	0.5
2	10	70	1.5
3	12	80	2.5

2.1.2 供试液的制备与测定 准确称取 20.0 g 大黄药材共 9 份,按正交表所列试验设计进行渗漉提取、滤过、合并滤液,分别定容于 250 mL 容量瓶中。精密量取各大黄提取液 10 mL 水浴上挥去乙醇,加水定容于 100 mL 容量瓶中,作为供试液。

2.1.3 游离蒽醌含量测定^[1] 精密吸取各供试溶液 1 mL,置分液漏斗中,加无水乙醚萃取 2 次(5,5

mL),分出乙醚层,用 5% NaOH-2% NH₄OH 混合碱溶液萃取 2 次(5,3 mL),合并混合碱液于 10 mL 具塞刻度试管中,沸水浴驱去残留乙醚,补加混合碱液至刻度,摇匀,放置 30 分钟,以 5% NaOH-2% NH₄OH 混合碱液为空白,于 520 nm 处测定吸光度,通过标准曲线计算即得。

2.1.4 大黄标准曲线的绘制 精密称取 1,8-二羟基蒽醌对照品 10.4 mg 于 100 mL 容量瓶中加甲醇溶解并稀释至刻度,分别取 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 于 25 mL 容量瓶中,在水浴上蒸干,加 5% NaOH-2% NH₄OH 混合碱液溶解并稀释至刻度,摇匀,放置 1 小时,以 5% NaOH-2% NH₄OH 混合碱液为空白,在 520 nm 处测定吸光度,经回归处理得回归方程 $y = 0.2082x - 0.03264$, $r = 0.9997$,在 52~520 μg 范围内 1,8-二羟基蒽醌线性关系良好。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果及数据处理表

试验号	A	B	C	D	游离蒽醌含量 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	10.26
2	1	2	2	2	9.08
3	1	3	3	3	17.50
4	2	1	2	3	4.61
5	2	2	3	1	8.21
6	2	3	1	3	18.43
7	3	1	3	2	5.64
8	3	2	1	3	10.52
9	3	3	2	1	11.31
均值 I_j	12.280	6.837	13.070	9.927	
均值 II_j	10.417	9.270	8.333	11.050	
均值 III_j	9.157	15.747	10.450	10.877	
极值 R	3.123	8.910	4.737	1.123	

表 3 大黄方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	F 比值	F 临界值	显著性
A	14.815	2	6.753	19	无显著意义
B	127.256	2	58.002	19	$P < 0.05$
C	33.781	2	15.397	9	$P < 0.10$
误差	2.19	2			

2.1.4 实验结果 由表 2、表 3 分析可知:大黄最

佳提取工艺为 $A_2B_3C_1$, 对大黄中游离蒽醌含量影响因素主次顺序是 $B > C > A$, 即用 80% 的乙醇渗漉, 渗漉时溶液流动速度为 0.5 ml/min, 乙醇用量为 10 倍。

2.1.5 验证实验 根据表 2 结果, 按 $A_2B_3C_1$ 安排 5 次实验, 大黄中游离蒽醌平均含量为 18.24 mg/g, $RSD = 1.3\%$ ($n = 5$)。该工艺不仅尽可能多地提高游离蒽醌的含量, 而且比较经济。因此该工艺可行。

2.2 川芎正交试验设计方案

2.2.1 因素水平 采用乙醇回流提取川芎有效成分, 选择乙醇浓度(A)、乙醇加入量(B)作为考察对象, 每个因素取二水平(见表 4), 以吸收度值为考察指标优选最佳工艺条件。用 $L_4(2^3)$ 正交表安排试验(见表 5)。

表 4 川芎试验因素水平表

水 平	因 素	
	A 乙醇浓度(%)	B 乙醇用量/倍
1	80	8
2	90	10

2.2.2 供试液的制备与测定 准确称取川芎药材 20.0 g 共 4 份进行实验, 按正交表所列实验设计进行回流提取、滤过、合并滤液, 浓缩至等量, 分别精密量取川芎提取液各 2 mL 置 25 mL 容量瓶中, 用 80% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5.0 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 加 80% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液, 以 80% 乙醇为空白, 在 280 nm 处测定吸收度。

2.2.3 川芎标准曲线的绘制 精密称取盐酸川芎嗪标准品 10.8 mg 于 100 mL 容量瓶中, 加 80% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 25 mL 容量瓶中, 并加 80% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 以 80% 乙醇溶液为空白, 在 280 nm

处测定吸收度, 并绘制标准曲线。经处理得回归方程 $y = 0.1636x + 0.00451$, $r = 0.9998$, 表明在 108~540 μg 范围内川芎嗪线性关系良好。

2.2.4 实验结果 川芎嗪提取工艺实验结果及方差分析见表 5、表 6。

表 5 $L_4(2^3)$ 正交试验结果及数据处理表

试验号	A	B	C	吸收度
1	1	1	1	0.6831
2	1	2	2	0.7614
3	2	1	2	0.2941
<1	<2	<2	<1	<0.3054
均值 I_j	0.722	0.489	0.494	
均值 II_j	0.320	0.533	0.528	
极值 R	0.422	0.044	0.034	

表 6 川芎方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	F 比值	F 临界值	显著性
A	0.179	1	179	161	$P < 0.05$
B	0.002	1	2	161	无显著意义
误差	0.001	1			

由表 5、表 6 可见: 对川芎提取工艺影响因素主要是 A(乙醇浓度), 川芎嗪最佳提取工艺为 A_1B_2 , 即用 10 倍量 80% 的乙醇回流提取。

2.2.5 验证实验 根据表 5 结果, 按 A_1B_2 安排 5 次实验, 测得吸收度平均值为 0.7602, $RSD = 0.89\%$ ($n = 5$)。

3 讨论

大黄及川芎提取液最大吸收波长的选择, 在参考文献的基础上, 以各自的供试品溶液和对照品溶液, 分别在 400~600 nm 和 200~400 nm 波长处进行扫描, 得大黄最大吸收波长为 520 nm, 川芎最大吸收波长为 280 nm, 与文献报道基本一致。

参考文献

- [1] 罗顺德, 蔡鸿生, 苏伟. 几种提取方法对大黄蒽醌含量的影响[J]. 中药通报, 1987, 12(5): 30

(收稿日期: 2003-06-19)

新专栏征稿

《江西中医学院学报》(双月刊)已全面改版, 以下重点栏目面向全国征稿:

●理论研究 对中医重大理论问题进行专题论述。讨论专题有: 中医水理论、火理论研究、体质学说研究、梦理论、病证理论研究。

●百家争鸣 旨在打破中医学学术界的沉闷局面, 对中医药事业发展的重大问题展开讨论争鸣。争鸣要求坚持良好的学术道德, 敢说真话, 敢亮观点。争鸣的主要内容有: 中医教育反思、中医科研走向、中医发展前景、中西医结合前景、新时期中医的生存模式等。

●中医文化研究 主要反映中医与古代哲学、古代社会政治经济、人文地理等文化形态的研究成果以及五运六气研究、生命学说研究的最新动态。

●道教医学研究 包括道教医药文献研究、道教医药人物研究、道教医药史研究、道教医学理论研究、道教医学方药研究、道教医学养生研究等, 要求观点正确, 不违背国家宗教政策。

欢迎广大作者踊跃投稿。