

复方银黄微型灌肠剂中柴胡与金银花提取工艺的优选

陈燕军 刘华钢(广西中医学院 南宁 530001)

复方银黄微型灌肠剂是在银黄制剂的基础上,根据临床经验加柴胡组成的复方制剂。由于该复方制剂中各药物的有效成分性质不同,混合提取会影响制剂的成品质量。因此,我们将黄芩单独提取,而金银花与柴胡混合提取。本文选择绿原酸含量与浸膏得率作为指标,采用正交试验法,对柴胡、金银花提取工艺中的一些影响因素进行考察。

1 实验部分

1.1 材料与仪器 材料:柴胡、金银花均购于南宁市药材公司,经鉴定为正品金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)和正品柴胡(*Bupleurum Chinense* DC.)。绿原酸对照品:由中国药品生物制品检定所提供(753-8701)。仪器:LC-8A 高效液相色谱仪(日本岛津),C-R4A 数据处理机,SPD-6AV 检测器,SCL-8A 系统控制器,Shim-pack CLC-ODS 柱。

1.2 实验方法

1.2.1 因素、水平确定 根据拟定的制备工艺中影响提取的因素,确定考察因素为浸泡时间、煎煮时间、加水量及醇沉浓度,采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

因素 水平	A 浸泡时间 (h)	B 煎煮时间 (h)	C 加水量* (倍)	D 醇沉浓度 (%)
1	0	1,0.5	6,4	55
2	0.5	1.5,1	8,6	70
3	1	2,1.5	10,8	85

(* 为药材量的倍数)

1.2.2 试验方法 取样品 18 份,按正交表(见表 2)试验方案进行实验,每个方案平行实验 2 次。具体操作:取金银花、柴胡药材,加水浸泡(或不浸泡)一定时间后,煎煮 2 次,合

并 2 次煎液,过滤,滤液浓缩至与药材量之比 1:1 时,加乙醇使达到一定的含醇量,静置 24h,过滤。滤液回收乙醇,并浓缩至一定的程度(约 50ml),调 pH6.0,并稀释至 60ml。取 20ml 测得浸膏得率,另取样品测定绿原酸的含量。

1.2.3 浸膏得率测定 采用烘干法测定,精密吸取样品液 20ml,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105℃ 干燥 3h,移置干燥器中,冷却 30min,迅速精密称重,并以下式计算浸膏得率,结果见表 2。

$$\text{浸膏得率} = (\text{干浸膏量} \times 3 / \text{药材总量}) \times 100\%$$

1.2.4 高效液相色谱法测定绿原酸含量

1.2.4.1 色谱条件 色谱柱:Shim-pack CLC-ODS (15cm × 6.0mm) 柱;柱温:室温;流动相:甲醇-水-冰醋酸(22:78:1),流速:1ml/min;检测波长:λ = 326nm,纸速:2.5mm/min;灵敏度 0.02Aufs。

1.2.4.2 标准曲线的制备 精密称取绿原酸对照品 17.2mg,用 20% 的乙腈溶液溶解定容至 100ml,即得对照品溶液,浓度为 172μg/ml。精密吸取对照品溶液 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25ml 分别用 20% 乙腈溶液稀释至 10ml,各取 2μl 用 20% 乙腈溶液稀释至 2ml,取此稀释液分别进样 20μl,在上述色谱条件下测定峰面积。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标作曲线,经回归处理得线性方程为 $Y = 37662.1x - 1924.9$,相关系数 $r = 0.9999$ 。表明绿原酸对照品溶液在 0.086~0.430μg 范围内具有良好的线性关系。

1.2.4.3 样品测定 取样品溶液 1ml,用 20% 乙腈稀释至 10ml,过微孔滤膜,所得滤液作为供试品溶液。在上述色谱条件下,取 20μl 进样测定含量,结果见表 2。

表2 正交设计表及结果

列号	A	B	C	D	绿原酸的含量(%)			浸膏得率(%)		
					X_1	X_2	$\sum X$	Y_1	Y_2	$\sum Y$
1	1	1	1	1	1.26	1.22	2.48	20.3	20.7	41.0
2	1	2	2	2	1.53	1.74	3.27	21.9	22.1	44.0
3	1	3	3	3	1.29	1.35	2.64	19.6	19.2	38.8
4	2	1	2	3	1.26	1.14	2.40	19.4	18.6	38.0
5	2	2	3	1	1.50	1.59	3.09	22.9	21.6	44.5
6	2	3	1	2	1.41	1.32	2.73	19.2	18.4	37.6
7	3	1	3	2	1.47	1.47	2.94	21.0	21.4	42.4
8	3	2	1	3	1.14	1.26	2.40	17.7	17.5	35.2
9	3	3	2	1	1.26	1.44	2.70	21.8	22.2	44.0

绿原酸含量
 k_1 8.39 7.82 7.61 8.27 $G=24.65$
 k_2 8.22 8.76 8.37 8.94 $CT=G^2/N=33.757$
 k_3 8.04 8.07 8.67 7.44 $Q=k_1^2+k_2^2+k_3^2$
 R 0.35 0.94 1.06 1.50 $SS=Q/6-CT$

浸膏得率
 k_1 123.8 121.4 113.8 129.5 $G=\sum\sum Y=365.5$
 k_2 120.1 123.7 126.0 124.0 $CT=G^2/N=7421.68$
 k_3 121.6 120.4 125.7 112.0
 R 1.23 1.10 4.07 5.83

2 结果与分析

正交试验绿原酸含量、浸膏得率的测定结果见表2, 色谱图见图1, 方差分析见表3、4。由表2、3可知, 以绿原酸为考察指标时, D因素对提取工艺的影响非常显著, B、C两因素也有显著性影响, 而A因素各水平之间差异则没有显著性意义。由表2、4, 选取浸膏得率为考察指标时, C、D两因素对提取工艺的影响非常显著, 尤以D因素影响最大。而A、B两因素的影响不大。

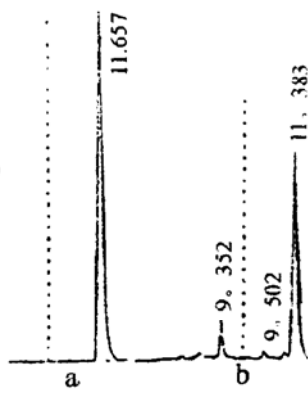


图1 复方银黄微型灌肠剂色谱图
 a. 绿原酸对照品色谱图
 b. 样品色谱图

表3 绿原酸含量的方差分析表

变异来源	SS	ν	MS	F	P
A	0.010	2	5.00×10^{-3}	0.71	>0.05
B	0.079	2	3.95×10^{-2}	5.64	<0.05
C	0.099	2	4.95×10^{-2}	7.07	<0.05
D	0.188	2	9.40×10^{-2}	13.43	<0.01
SSe	0.063	9	7.00×10^{-3}		

$F_{0.05}(2,9)=4.26$ $F_{0.01}(2,9)=8.02$ (下同)

表4 浸膏得率方差分析

变异来源	SS	ν	MS	F	P
A	1.155	2	0.5775	2.82	>0.05
B	0.955	2	0.4775	2.33	>0.05
C	16.142	2	8.071	39.37	<0.01
D	26.695	2	13.3475	65.11	<0.01
SSe	1.845	9	0.205		

综合两指标考虑, 由于浸膏得率指标中C因素2水平与3水平, D因素1水平与2水平经q检验无显著性差异。认为金银花、柴胡提取工艺的最佳工艺条件组合为A₁B₂C₃D₂。即药材不经浸泡, 加水煎煮2次。合并煎出液后, 浓缩至与药材量之比为1:1, 加乙醇使药液含醇量达70%, 经静置、过滤、回收乙醇, 浓缩后得提取液。

3 讨论

3.1 以浸膏得率、绿原酸含量为考察指标, 可较全面地反映提取工艺条件选择的合理与否。

3.2 D因素是影响提取工艺最大的因素。两指标反映出D因素的最佳条件分别为D₁、D₂, 但考虑到醇沉浓度太低, 药液的杂质多, 生产滤过困难, 浸膏收率和绿原酸含量测定两指标中应以含量测定为主。因此, 认为选择D₂为最佳条件较适宜。

(收稿: 1998-04-20)