

多指标正交试验法优化肝友胶囊的提取工艺

邓礼荷, 梁结斐, 谭雄斯*

(肇庆医学高等专科学校, 广东 肇庆 526020)

[摘要] **目的:**优化肝友胶囊中火炭母等 14 味饮片的提取工艺。**方法:**以虎杖苷和白藜芦醇提取量的综合评分为指标,通过正交试验考察加水量、提取时间、提取次数和浸泡时间对肝友胶囊提取工艺的影响。采用 HPLC 测定虎杖苷和白藜芦醇含量,流动相甲醇-0.5% 磷酸水溶液(35:65),检测波长 306 nm,流速 0.9 mL·min⁻¹。**结果:**最佳提取工艺条件为加 8 倍量水浸泡 0.5 h,提取 2 次,每次 2.0 h;虎杖苷、白藜芦醇平均提取量分别为 0.676,0.198 mg·g⁻¹,RSD 依次为 0.56%,0.91%。**结论:**该工艺稳定可行,为提高肝友胶囊的质量稳定性和临床用药安全提供实验依据。

[关键词] 肝友胶囊;提取工艺;虎杖苷;白藜芦醇;虎杖;鸡骨草

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0039-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160039

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140627.0947.104.html>

[网络出版时间] 2014-06-26 10:31

Optimization of Extraction Technology of Ganyou Capsules by Multi-index Orthogonal Test

DENG Li-he, LIANG Jie-fei, TAN Xiong-si*

(Zhaoqing Medical College, Zhaoqing 526020, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of Herba Polygoni Chinensis and other Thirteen kinds of medicinal materials in Ganyou capsules. **Method:** With composite score of extraction amounts of polydatin and resveratrol as index, orthogonal test was adopted to optimize water extraction technology of Ganyou capsules by taking the amount of water, soaking time, extraction time and times as factors. Contents of polydatin and resveratrol were determined by HPLC, mobile phase consisted of methanol-0.5% phosphoric acid solution (35:65), detection wavelength was set at 306 nm and flow rate was 0.9 mL·min⁻¹. **Result:** Optimum extraction conditions were as follows: soaked 0.5 h with eight times the amount of water, extracted twice for 2 h per time; under these conditions, average extracting amounts of polydatin and resveratrol were 0.676, 0.198 mg·g⁻¹, RSD were 0.56% and 0.91%, respectively. **Conclusion:** This optimized extmction technology was stable and feasible, it would provide experimental basis for improvement of quality stability and clinical drug safety of Ganyou capsules.

[Key words] Ganyou capsules; extraction technology; polydatin; resveratrol; Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix; Abri Herba

肝友胶囊处方源于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》第十一册,由火炭母 286 g,丹

参 286 g,虎杖 286 g,鸡骨草 286 g,茯苓 228 g,山楂 286 g,郁金 114 g,泽泻 228 g,神曲茶 114 g,鸡爪芋

[收稿日期] 20131209(018)

[基金项目] 肇庆市科技创新项目(2013E126)

[第一作者] 邓礼荷,硕士,讲师,从事药物分析及质量标准研究,Tel:13824600673,E-mail:denglihe@126.com

[通讯作者] * 谭雄斯,硕士,药师,从事药理学教育和研究,Tel:13450185366,E-mail:tanxiongshilunwen@163.com

191 g,茵陈 286 g,白背叶根 286 g,党参 191 g,蚕砂 143 g,白术 114 g 共 15 味药材组成,具有清热利湿、疏肝解郁、活血化痰、健脾导滞之功效,可用于治疗急性、迁延性及慢性病毒性肝炎等。原制备工艺中仅规定了火炭母等 14 味饮片的提取次数,未确定提取时间、溶剂用量及过滤方式,致使产品质量的稳定性较差^[1]。故本实验选择虎杖苷和白藜芦醇提取量为综合评价指标,通过正交试验优选肝友胶囊的提取工艺,为提高该制剂的质量稳定性和临床用药安全提供参考。

1 材料

LC-10ATVP 型高效液相色谱仪 (SIL-10ADVP 型自动进样器,SPD-10AVP 型紫外-可见检测器,日本岛津)。火炭母等饮片均购亳州市中药饮片厂,经肇庆医学高等专科学校唐铁鑫博士检验均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求;虎杖苷、白藜芦醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110711-200708,110793-200605),肝友胶囊(规格 0.3 g/粒,批号 131102,131107,131113,广东益和堂制药有限公司),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

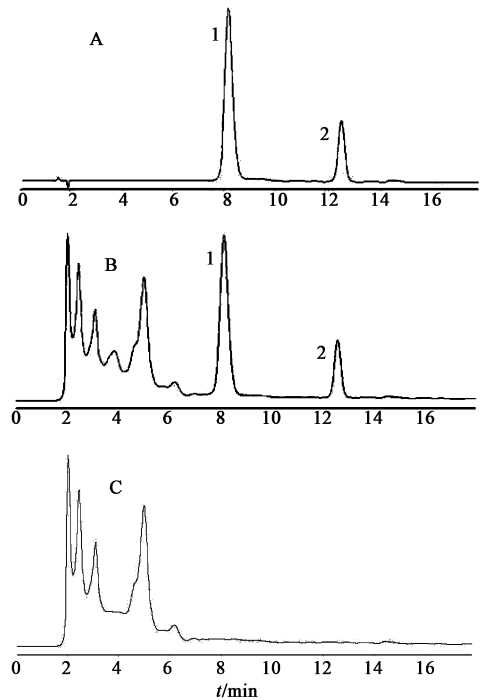
2 方法与结果^[2-6]

2.1 虎杖苷和白藜芦醇的定量检测

2.1.1 色谱条件 Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.5% 磷酸水溶液(35:65),检测波长 306 nm,进样量 10 μL,流速 0.9 mL·min⁻¹。理论塔板数以白藜芦醇计不低于 3 000,见图 1。

2.1.2 溶液的配制 精密称取虎杖苷和白藜芦醇对照品适量,加稀乙醇制成 0.072 6,0.021 8 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。精密量取提取液 10 mL,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇至刻度,称定质量,超声(300 W,30 kHz)处理 30 min,用稀乙醇补充减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。按肝友胶囊处方比例称取除虎杖外的火炭母等 13 味饮片,按优选的工艺条件提取,按上述方法制备缺虎杖的阴性样品溶液。

2.1.3 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 1,5,10,15,20 μL,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标,得虎杖苷、白藜芦醇回归方程分别为 $Y = 3.168 4 \times 10^6 X + 526.7 (r = 0.999 4)$, $Y = 2.364 6 \times 10^6 X - 461.9 (r = 0.999 7)$,线性范围分别为 0.072 6 ~ 1.452 0, 0.021 8 ~ 0.436 0 μg。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性样品;1. 虎杖苷;2. 白藜芦醇

图 1 肝友胶囊 HPLC

2.1.4 精密度试验 取混合对照品溶液适量,按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算虎杖苷、白藜芦醇峰面积 RSD 分别为 0.57%,0.83%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取同一批提取液,按 2.1.2 项下方法制备 6 份供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果虎杖苷、白藜芦醇含量的 RSD 分别为 0.62%,0.71%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,于放置 0,2,4,8,12,24 h 后按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算虎杖苷、白藜芦醇峰面积的 RSD 分别为 0.45%,0.39%,表明供试品溶液至少在 24 h 内基本稳定。

2.1.7 加样回收率试验 精密量取已知含量(虎杖苷 0.362 g·L⁻¹,白藜芦醇 0.106 g·L⁻¹) 的同批提取液 6 份,每份 5 mL,分别置于 50 mL 具塞锥形瓶中,各精密加入混合对照品溶液 25 mL,加稀乙醇稀释至刻度,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算虎杖苷、白藜芦醇的平均加样回收率分别为 98.63%,97.91%,RSD 分别为 0.84%,0.63%,表明本方法回收率良好。

2.2 提取工艺条件考察 根据工艺要求,选定加水量、提取时间、提取次数和浸泡时间作为考察因素,每个因素设置 3 个水平,因素水平见表 1,以虎杖苷、白藜芦醇提取量的综合评分为评价指标,综合评分 = 虎杖苷提取量/虎杖苷最大提取量 × 0.6 ×

100 + 白藜芦醇提取量/白藜芦醇最大提取量 × 0.4 × 100。按一定工艺处理火炭母等 14 味饮片,按处方比例称取 9 份,每份合计 310.54 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行提取,滤过,滤液浓缩至 500 mL,得 9 份提取液,冷却至室温后置于冰箱中保存备用。按 2.1 项下方法测定提取液中虎杖苷和白藜芦醇含量,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 肝友胶囊提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量 /倍	B 提取时间 /h	C 提取数 /次	D 浸泡时间 /h
1	6	1.0	1	0.5
2	8	1.5	2	1.0
3	10	2.0	3	1.5

表 2 肝友胶囊提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	虎杖苷 /mg	白藜芦醇 /mg	综合 评分
1	1	1	1	1	85.76	25.15	47.32
2	1	2	2	2	151.52	44.28	83.48
3	1	3	3	3	160.21	47.22	88.57
4	2	1	2	3	122.56	35.26	67.11
5	2	2	3	1	181.23	53.16	100.00
6	2	3	1	2	168.03	50.17	93.38
7	3	1	3	2	132.27	39.03	73.16
8	3	2	1	3	154.32	44.57	84.63
9	3	3	2	1	179.95	51.82	98.57
K_1	73.12	62.53	75.11	81.96			
K_2	86.83	89.37	83.05	83.34			
K_3	85.45	93.51	87.24	80.10			
R	13.71	30.98	12.12	3.24			

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	F	P
A	341.80	21.59	<0.05
B	1 697.05	107.20	<0.01
C	227.87	14.39	>0.05
D(误差)	15.83		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99, f$ 均为 2。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $B > A > C > D$ 。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果显示 B 因素具有极显著性影响,A 因素影响具有显著性差异,C 因素则无显著性差异,结合生产成本等考虑,确定最佳提取工艺为

$A_2B_3C_2D_1$,即加水量 8 倍,浸泡时间 0.5 h,提取数 2 次,提取时间 2 h。

2.3 验证试验 按处方比例称取饮片 3 份,每份合计 3 105.4 g,按优选的提取工艺进行 3 次验证试验,结果虎杖苷、白藜芦醇平均提取量分别为 2.098,0.614 g,RSD 依次为 0.56%,0.91%,表明该工艺稳定可行。

3 讨论

预试验称取虎杖苷和白藜芦醇对照品适量,分别加流动相溶解并制成 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,在 200 ~ 400 nm 进行紫外扫描,结果发现二者均在 306 nm 处存在最大吸收,故检测波长选择 306 nm。正交试验直观分析显示提取 3 次的提取率高于提取 2 次,但生产成本较高,提取出的其他杂质亦会随之增加,而且提取数对工艺无显著性差异,故选择提取数 2 次。

肝友胶囊的制备工艺为按处方比例称取各药材,取丹参 28.6 g,粉碎成细粉,备用;鸡爪芋加水煎煮 2 次,第 1 次 2 h,第 2 次 1 h,滤过,合并滤液,浓缩至稠膏状,干燥,粉碎成细粉;其余火炭母等 13 味药材与剩余的丹参加药材 8 倍量水浸泡时间 0.5 h,提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并滤液,浓缩至稠膏状,加入丹参粉末混匀,干燥,粉碎成细粉,与鸡爪芋提取物细粉混匀,干燥,分装,制成 1 000 粒,充填,包装。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 国家药品标准中药成方制剂. 第 11 册[S]. 北京: 人民卫生出版社,1998:92.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社,2010:194,附录 30,附录 36.
- [3] 雷玲玲,梁侨丽,邹娜妹,等. 荆三棱中有效成分的提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(20):1.
- [4] 杨锐,王建春,张咏梅,等. 正交实验法优化妇舒保凝胶中大黄和虎杖的提取工艺[J]. 西北药学杂志,2013,28(4):342.
- [5] 赵鸿宾,陈华国,周欣,等. 虎杖提取工艺研究及 RP-HPLC 同时测定虎杖提取物中 3 个成分的含量[J]. 中成药,2010,32(8):1393.
- [6] 卢燕,李华丽,林牡丹,等. 微波提取 UPLC 同时测定虎杖中 5 种主要活性成分的含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(13):1994.

[责任编辑 刘德文]