

正交试验法优选泰痹颗粒的提取工艺

叶淑颖¹, 唐业建², 曾怡¹, 郭婉媚¹, 王岩^{1*}

(1. 广东药学院, 广州 510006; 2. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023)

[摘要] 目的: 优选泰痹颗粒的提取工艺。方法: 以虎杖苷、大黄素含量及干膏得率的综合评分为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法考察加水量、提取次数及提取时间对泰痹颗粒水提工艺的影响。采用 RP-HPLC 测定虎杖苷、大黄素含量, 流动相分别为乙腈-水 (21:79) 和甲醇-0.1% 磷酸溶液 (77:23), 检测波长依次为 306, 254 nm。结果: 最佳提取工艺为加 10 倍量水提取 3 次, 每次 1 h; 虎杖苷、大黄素质量分数及干膏得率的平均值分别为 0.076%, 0.510%, 25.720%。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 适用于该制剂的工业生产。

[关键词] 泰痹颗粒; 提取工艺; 总评“归一值”; 虎杖苷; 大黄素

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0037-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170037

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140715.1323.002.html>

[网络出版时间] 2014-07-15 13:23

Optimization of Extraction Technology for Taibi Granules by Orthogonal Test

YE Shu-ying¹, TANG Ye-jian², ZENG Yi¹, GUO Wan-mei¹, WANG Yan^{1*}

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize water extracting technology of Taibi granules. **Method:** With dry extract yield, contents of polydatin and emodin as comprehensive evaluation indexes, $L_9(3^4)$ orthogonal test was adopted to optimize extraction process by taking the amount of water, extraction times and time as factors. Contents of polydatin and emodin were determined by RP-HPLC, mobile phases were acetonitrile-water (21:79) and methanol-0.1% phosphoric acid solution (77:23), detection wavelengths were 306, 254 nm, respectively. **Result:** Optimum extraction process was as follows: refluxing extracted 3 times with 10-fold water, 1 h for each time; average values of dry extract yield, mass fractions of polydatin and emodin were 25.720%, 0.076% and 0.510%, respectively. **Conclusion:** Optimized extraction technology was stable, feasible and suitable for industrial production of Taibi granules.

[Key words] Taibi granules; extracting technology; overall desirability; polydatin; emodin

泰痹方为广西中医学院第一附属医院临床应用多年的有效验方, 由虎杖、络石藤、黄芪、杜仲等 11 味中药组成, 具有祛风利湿、散瘀止痛的功效, 用于治疗各类风湿和类风湿病, 尤其是类风湿性关节炎, 临床疗效稳定。方中虎杖为君药, 性苦寒, 归肝、胆、

肺经, 具有清热利湿、活血止痛、解毒的功效^[1]。原方为汤剂, 存在服用不便、煎煮麻烦等问题, 根据临床应用经验, 拟将其研制为颗粒剂。虎杖苷和大黄素是虎杖中主要特征性成分, 药理活性显著, 且与虎杖的功效具有相关性, 是评价虎杖饮片质量的较佳

[收稿日期] 20140102(009)

[基金项目] 广西科技攻关项目(桂科攻-12118005-2-8)

[第一作者] 叶淑颖, 在读硕士, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel:13632243052, E-mail:812328138@qq.com

[通讯作者] * 王岩, 博士, 教授, 从事中药学研究, Tel:020-39352169, E-mail:gdpwy@126.com

指标^[2-4]。故本实验以虎杖苷、大黄素含量及干膏得率的综合评分为指标,采用正交试验优选泰痹颗粒的水提工艺,为该制剂的工业生产提供实验依据。

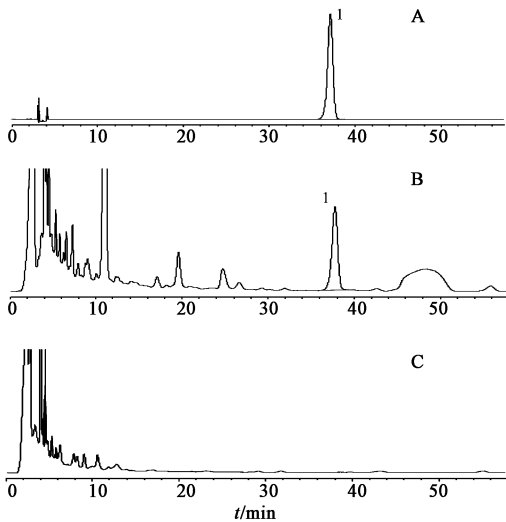
1 材料

LC-20AT型高效液相色谱仪(SIL-20A型自动进样器,SPD-20A型紫外检测器,日本岛津仪器公司),BP211D型1/10万电子分析天平(德国Sartorius公司)。虎杖、络石藤、黄芪、杜仲等药材均购自广东省药材公司中药饮片厂,经广东药学院曾令杰教授鉴定均符合《中国药典》2010年版一部相关项下规定;虎杖苷、大黄素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为1535-200001,110756-200110),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 虎杖苷的含量测定^[5-6]

2.1.1 色谱条件 Platisil ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(21:79),检测波长306 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量20 μL。理论板数按虎杖苷峰计算不低于3 000,见图1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 虎杖苷

图1 泰痹颗粒提取液中虎杖苷 HPLC

2.1.2 对照品储备液的制备 精密称取虎杖苷对照品1.54 mg,置100 mL棕色量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

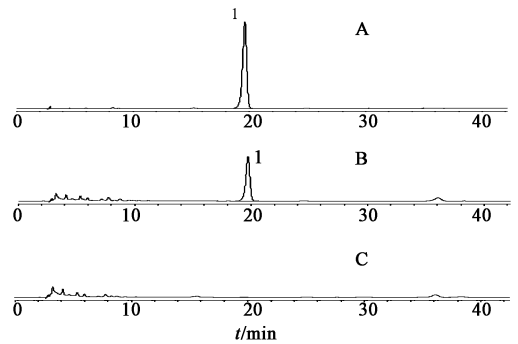
2.1.3 供试品溶液的制备 精密量取提取液1 mL,置10 mL棕色量瓶中,加入甲醇约9 mL,超声处理30 min(100 W,40 Hz),放冷,加甲醇定容至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取对照品储备液1, 2, 4, 6, 8 mL,分别置于10 mL棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得系列对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 157\ 995X - 14\ 799$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围0.030 8 ~ 0.308 μg。

2.1.5 精密度试验 精密吸取0.015 4 g·L⁻¹虎杖苷对照品溶液适量,按2.1.1项下色谱条件连续进样6次,计算峰面积的RSD 0.27%,表明仪器精密度良好。

2.2 大黄素的含量测定^[5]

2.2.1 色谱条件 Platisil ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1%磷酸溶液(77:23),检测波长254 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量20 μL。理论板数按大黄素峰计算不低于3 000,见图2。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 大黄素

图2 泰痹颗粒提取液中大黄素 HPLC

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品2.48 mg,置50 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取提取液1 mL,置平底烧瓶中,精密加入三氯甲烷25 mL和2.5 mol·L⁻¹硫酸溶液20 mL,称定质量,置80℃水浴中加热回流1 h,取出,冷却至室温,称定质量,用三氯甲烷补足减失的质量,摇匀。分取三氯甲烷层,精密量取10 mL,蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至20 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取对照品溶液1, 2, 4, 6, 8 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 132\ 724X - 16\ 932$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围0.099 2 ~ 0.992 μg。

2.2.5 精密度试验 精密吸取0.049 6 g·L⁻¹大黄

素对照品溶液适量,按 2.2.1 项下色谱条件连续重复进样 6 次,结果大黄素峰面积的 RSD 0.03%,表明仪器精密度良好。

2.3 干膏得率测定 分别精密量取提取液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干后置于 105 °C 烘箱中干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,于 105 °C 干燥 1 h,置干燥器中冷却 30 min,称定质量,至两次质量差异不超过 0.3 mg 为止,记录各样品液的干膏质量,计算干膏得率^[7]。

2.4 提取工艺优选 由于目标剂型为水溶性颗粒剂,故选择水提。选择加水量、提取次数及提取时间为考察因素,以虎杖苷、大黄素质量分数及干膏得率为综合评价指标,按处方量称取各药材,共 9 份,置平底烧瓶中,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行加热回流提取,滤过,合并提取液,浓缩,放冷,加水定容至 100 mL,

因素水平见表 1。为客观反映各因素间的关系及因素水平对水提液质量的影响,拟采用综合加权评分法进行数据处理,即以虎杖苷 (W_1)、大黄素 (W_2) 质量分数及干膏得率 (W_3) 的总评“归一值”(overall desirability, OD) 为指标^[8],权重系数分别为 0.4, 0.4, 0.2, 即 $OD = (0.4 \times W_1/W_{1max} + 0.4 \times W_2/W_{2max} + 0.2 \times W_3/W_{3max}) \times 100\%$,以综合指标进行直观分析和方差分析,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 秦痹颗粒提取工艺正交试验因素水平

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

表 2 秦痹颗粒提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	虎杖苷	大黄素	干膏得率	OD
1	1	1	1	1	0.022	0.172	12.203	33.002
2	1	2	2	2	0.040	0.226	24.320	55.222
3	1	3	3	3	0.026	0.284	26.550	54.085
4	2	1	2	3	0.054	0.205	17.600	55.701
5	2	2	3	1	0.062	0.184	24.850	63.666
6	2	3	1	2	0.079	0.416	25.340	89.733
7	3	1	3	2	0.043	0.244	17.000	52.552
8	3	2	1	3	0.067	0.275	21.650	70.491
9	3	3	2	1	0.077	0.543	26.060	98.618
K_1	47.436	47.085	64.409	65.095				
K_2	69.700	63.126	69.847	65.836				
K_3	73.887	80.812	56.768	60.092				
R	26.451	33.727	13.079	5.744				

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	F	P
A	1 212.840	20.710	<0.05
B	1 707.618	29.158	<0.05
C	259.029	4.423	>0.05
D(误差)	58.560		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对秦痹颗粒提取工艺的影响顺序为 $B > A > C$,确定最佳组合为 $A_3B_3C_2$ 。方差分析表明因素 A, B 均具有显著性影响,同时为节约成本,将无显著性影响的 C 确定为 C_1 ,最终选择提取工艺为 $A_3B_3C_1$,即加 10 倍量水提取 3 次,每次 1 h。

2.5 验证试验 称取处方量药材共 3 份,每份 125 g,按最佳提取工艺进行验证试验,计算提取物中虎杖苷、大黄素质量分数及干膏得率的平均值分别为 0.076%, 0.510%, 25.720%, RSD 分别为 1.78%, 1.26%, 0.78%,表明优选的提取工艺条件稳定可行。

3 讨论

由于本品中药味较多,极性相似成分众多,按 2010 年版《中国药典》相关项下条件进行测定,发现大黄素峰与虎杖苷峰均受到其他成分的干扰,通过调整流动相比,最终将大黄素、虎杖苷的流动相分别调整为甲醇-0.1% 磷酸溶液 (77:23) 和乙腈-水 (21:79),分离度得到明显改善。优选秦痹颗粒提

薄荷趁鲜切制的可行性探讨

王文凯, 贾静, 张正, 翁萍, 杨武亮, 龚千锋*

(江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 探讨薄荷趁鲜切制法的可行性, 寻找薄荷的最佳切制方法。方法: 采用GC测定薄荷脑含量, 升温程序为初始温度100℃, 保持7 min; 以3.5℃·min⁻¹升温至120℃, 保持1 min; 以0.5℃·min⁻¹升至122℃, 以35℃·min⁻¹升温至220℃; 流速1.3 mL·min⁻¹, 进样量1 μL, 分流比5:1。比较传统切制法与趁鲜切制法制备的薄荷饮片中挥发油和薄荷脑的含量差异, 评价不同切制方法对薄荷饮片质量的影响。结果: 趁鲜切制法较传统切制法薄荷中挥发油、薄荷脑质量分数分别相对提高14.95%, 5.60%。结论: 建议薄荷采用趁鲜切制法处理, 可提高饮片质量及工作效率。

[关键词] 薄荷; 趁鲜切制法; 传统切制法; 薄荷脑; 挥发油

[中图分类号] R283.1; R283.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0040-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170040

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140715.1344.019.html>

[网络出版时间] 2014-07-15 13:44

Feasibility Analysis of Cutting Process of Fresh Menthae Haplocalycis Herba

WANG Wen-kai, JIA Jing, ZHANG Zheng, WENG Ping, YANG Wu-liang, GONG Qian-feng*

(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To probe into feasibility of cutting process of fresh Menthae Haplocalycis Herba, in order to look for the best processing method by cutting. **Method:** GC chromatography was employed to

[收稿日期] 20140107(015)

[基金项目] 国家中医药行业科研专项“中药饮片调剂规范化研究”(201007011)

[第一作者] 王文凯, 教授, 从事中药炮制工艺及饮片质量控制研究, Tel: 0791-87118995, E-mail: jxwkyx@163.com

[通讯作者] * 龚千锋, 教授, 从事中药炮制规范研究, Tel: 0791-87118995, E-mail: gongqf2002@163.com

取工艺时, 数据处理引入了综合指标概念, 给予关键因素相应的权重系数, 不仅将具有不同考察范围的指标转变成一个数值, 且较好地避免单一指标评价的片面性, 分析结果更为客观、科学^[9]。

[参考文献]

- [1] 郑德勇, 刘峻承. 红藤虎杖汤治疗急性痛风性关节炎43例[J]. 中医杂志, 2013, 54(3): 250.
- [2] 范玲, 严冬, 李爽, 等. 一测多评法测定虎杖中虎杖苷、白藜芦醇、大黄素及大黄素甲醚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 103.
- [3] 张彤, 徐莲英, 丁越. 虎杖中萜醌类成分提取工艺研究[J]. 中成药, 2007, 29(6): 827.
- [4] 张建军, 付建武, 徐峻. 星点设计-效应面法优选虎杖提

取工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(6): 401.

- [5] 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.
- [6] 白梓静, 齐广才, 刘珍叶, 等. 高效液相色谱法测定消炎利胆冲剂中虎杖苷的含量[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(4): 251.
- [7] 常国洁, 汪宁, 许凤清, 等. 正交试验法优选通窍活血颗粒剂的提取工艺[J]. 安徽中医学院学报, 2011, 30(2): 76.
- [8] 张金莲, 姚冬琴, 龚千锋, 等. 多指标综合加权评分法优选马兜铃蜜制工艺[J]. 中成药, 2012, 34(2): 321.
- [9] 王洁, 宁忠兴, 郭东艳, 等. 多指标综合加权评分法优选桑蒂复肝胶囊的提取工艺[J]. 现代中医药, 2010, 30(1): 56.

[责任编辑 刘德文]