

# 正交试验法优选健胃清肠合剂的水提醇沉工艺

姜玲艳, 张小华, 张宏武, 王磊, 刘效栓, 李喜香\*

(甘肃省中医院, 兰州 730050)

**[摘要]** 目的: 优选健胃清肠合剂的水提醇沉工艺。方法: 以大黄酸、大黄素、大黄酚总含量和干膏得率的综合评分为指标, 采用正交试验考察加水量、提取次数、提取时间对水提取工艺的影响; 以大黄酸、大黄素、大黄酚总含量为指标, 通过正交试验考察醇沉浓度和浓缩液相对密度对醇沉工艺的影响。结果: 最佳提取、醇沉工艺为加 10 倍量水提取 2 次, 每次 3 h, 合并提取液, 浓缩至相对密度  $1.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 加乙醇至乙醇体积分数 60% 除去沉淀。结论: 优选的提取、醇沉工艺稳定可行, 为健胃清肠合剂规范化生产提供参考。

**[关键词]** 正交试验; 健胃清肠合剂; 相对密度; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0035-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013170035

## Optimization of Water Extraction and Alcohol Precipitation Technology for Jianwei Qingchang Mixtures by Orthogonal Test

JIANG Ling-yan, ZHANG Xiao-hua, ZHANG Hong-wu, WANG Lei, LIU Xiao-shuan, LI Xi-xiang\*

(Gansu Province Traditional Chinese Medicine Hospital, Lanzhou 730050, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize water extraction and alcohol precipitation technology of Jianwei Qingchang mixtures. **Method:** With composite score of the total content of rhein, emodin and rhubarb phenol, dry extract yield as index, effects of the amount of water, extraction times and time on extraction technology was investigated by orthogonal test; With the total content of rhein, emodin and rhubarb phenol as index, orthogonal test was adopted to investigate effects of the concentration of alcohol precipitation and relative density of concentrate on alcohol precipitation technology. **Result:** Optimum water extraction and alcohol precipitation technology was as following: extracted 2 times with 10 folds the amount of water, 3 h each time, extracts were combined and concentrated to a relative density of  $1.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , added 95% ethanol to precipitate the volume fraction of ethanol with 60%. **Conclusion:** Optimized water extraction and alcohol precipitation technology was stable and feasible, it could provide a reference for standardized production of Jianwei Qingchang mixtures.

**[Key words]** orthogonal test; Jianwei Qingchang mixtures; relative density; HPLC

健胃清肠合剂为我院院内制剂, 由大黄、芒硝、厚朴、枳壳等组成, 具有健胃清肠之功效, 主要用于肠道系统检查前清肠的准备工作。该方为纯中药制剂, 由经方承气汤加减化裁, 遵循原方荡涤肠胃、消

积散结之功, 又具有健脾消食、行气和胃之作用<sup>[1]</sup>。与甘露醇相比, 效果更佳<sup>[2]</sup>。方中大黄为君药, 能泻热除滞, 治气滞腹满引起的“痛而闭者”。本实验采用正交试验法, 以大黄酸、大黄素、大黄酚总含量和干膏得率为评价指标, 优选健胃清肠合剂的水提醇沉工艺, 为该制剂的规范化生产提供理论依据。

### 1 材料

Waters 1525 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), METTLER AE240 型电子分析天平(赛多利斯公司)。

**[收稿日期]** 20130305(009)

**[第一作者]** 姜玲艳, 主管中药师, 从事医院制剂研究, Tel: 0931-2687068, E-mail: xiaohua1211@sina.com

**[通讯作者]** \* 李喜香, 主任中药师, 从事中药新制剂研究与开发, Tel: 0931-2687057, E-mail: lixixiang929@163.com

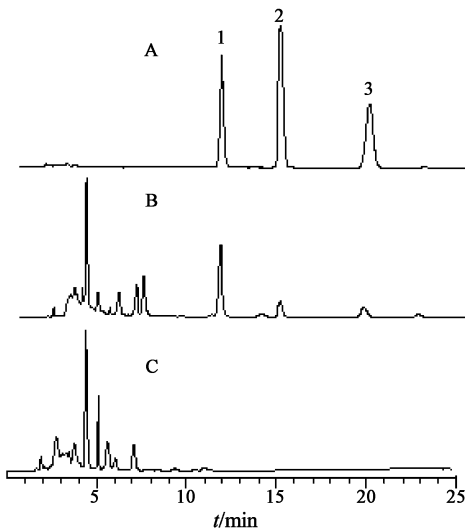
健胃清肠合剂(甘肃省中医院药学部提供,批号 20121218、20121219、20121220),大黄酸、大黄素、大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110757-200206, 110756-200110, 110796-200716),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 干膏得率的测定** 按处方比例称取适量药材,加水提取,提取液浓缩成流浸膏,移置经 110 °C 干燥 3 h 至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 °C 干燥 3 h,取出,移置干燥器中,冷却至室温,迅速精密称定质量,计算干膏得率。

**2.2 大黄酸、大黄素、大黄酚的含量测定**<sup>[3-10]</sup>

**2.2.1 色谱条件** Waters Symmetry Shield-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(85:15),流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长 254 nm,进样量 10 μL,见图 1。



A 对照品;B: 供试品;C 阴性对照;  
1. 大黄酸;2. 大黄素;3. 大黄酚

图 1 健胃清肠合剂 HPLC

**2.2.2 对照品溶液的制备** 分别精密量取大黄酸、大黄素、大黄酚对照品适量,加甲醇制成质量浓度依次为 0.029, 0.027, 0.020 g · L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密吸取本品 25 mL,置 250 mL 锥形瓶中,水浴蒸干,残渣加 2.5 mol · L<sup>-1</sup> 硫酸 20 mL 溶解,超声提取 10 min,加三氯甲烷 20 mL 超声提取 10 min,冷却后转移至分液漏斗中,用少量三氯甲烷冲洗容器并入分液漏斗中,分取三氯甲烷层,酸液用三氯甲烷提取 3 次,每次 20 mL,合并三氯甲烷液,移至蒸发皿中,挥去三氯甲烷,残渣加甲醇适量,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇

匀,放置,溶液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

**2.2.4 阴性供试品的制备** 取不含大黄的健胃清肠合剂 25 mL,按 2.2.3 下方法制备供试品溶液,即得。

**2.2.5 线性关系的考察** 分别精密吸取混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 20 μL,按上述色谱条件进样,记录峰面积,以峰面积为纵坐标,进样质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y_{\text{大黄酸}} = 1.839 \times 10^5 X - 1913.6$  ( $r = 0.9998$ ),  $Y_{\text{大黄素}} = 2.559 \times 10^5 X + 5800.5$  ( $r = 0.9996$ ),  $Y_{\text{大黄酚}} = 1.664 \times 10^5 X - 4200.4$  ( $r = 0.9995$ ),表明大黄酸、大黄素、大黄酚分别在 0.058 ~ 0.58, 0.054 ~ 0.54, 0.04 ~ 0.40 μg 呈良好线性关系。

**2.3 水提取工艺优选** 称取 1/10 处方量药材,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交设计表进行试验,选取加水量、提取次数、提取时间为考察因素,每个因素设 3 个水平,以干膏得率和大黄酸、大黄素、大黄酚总质量浓度为评价指标,应用综合加权评分法进行分析,权重系数分别为 0.2, 0.8, 即综合评分 = 干膏得率/(干膏最高得率 × 0.2 × 10) + (大黄酸、大黄素、大黄酚最高含量 × 0.8 × 10),因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 健胃清肠合剂水提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取数/次	C 提取时间/h
1	8	1	1
2	10	2	2
3	12	3	3

表 2 健胃清肠合剂水提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	干膏得率/%	总质量浓度/g · L <sup>-1</sup>	综合评分
1	1	1	1	1	13.326	0.018	0.481
2	1	2	2	2	16.319	0.019	0.586
3	1	3	3	3	18.136	0.020	0.642
4	2	1	2	3	13.646	0.017	0.504
5	2	2	3	1	18.681	0.020	0.649
6	2	3	1	2	17.789	0.019	0.635
7	3	1	3	2	13.619	0.018	0.506
8	3	2	1	3	16.456	0.018	0.588
9	3	3	2	1	19.913	0.021	0.697
K <sub>1</sub>	2.919	2.224	2.900	3.336			
K <sub>2</sub>	3.196	3.320	3.193	2.980			
K <sub>3</sub>	3.207	3.896	3.230	3.008			
R	0.027	0.161	0.031	0.033			

表3 水提取工艺方差分析

方差来源	SS	<i>f</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
A	0.01	2	0.70	>0.05
B	0.04	2	19.62	<0.05
C	0.01	2	0.86	>0.05
D(误差)	0.01	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,各因素对水提取工艺的影响程度为  $B > C > A$ 。方差分析表明因素 *B* 对提取工艺的影响显著,其他因素则影响不显著,确定最佳水提取条件为  $A_2B_2C_2$ ,即加 10 倍量水提取 2 次,每次 3 h。

**2.4 醇沉工艺优选** 选取大黄酸、大黄素、大黄酚的总含量为指标,按最佳水提取工艺得水煎液,将水煎液进行醇沉处理,以醇沉浓度、浓缩液相对密度为考察因素,通过  $L_9(3^4)$  正交试验优选醇沉工艺,因素水平见表 4,试验安排及结果见表 5。

表4 健胃清肠合剂醇沉工艺优选正交试验因素水平

水平	<i>E</i> 浓缩液相对密度/ $g \cdot mL^{-1}$	<i>F</i> 醇沉浓度/%
1	1.03	50
2	1.05	55
3	1.10	60

表5 健胃清肠合剂醇沉工艺优选正交试验安排

No.	<i>E</i>	<i>F</i>	<i>G</i> (空白)	大黄酸、大黄素、大黄酚 总质量浓度/ $g \cdot L^{-1}$
1	1	1	1	0.016 5
2	1	2	2	0.017 1
3	1	3	3	0.018 3
4	2	1	2	0.016 9
5	2	2	3	0.018 7
6	2	3	1	0.020 1
7	3	1	3	0.016 1
8	3	2	1	0.018 4
9	3	3	2	0.019 6
$K_1$	0.002 7	0.002 5	0.003 0	
$K_2$	0.003 1	0.002 9	0.002 9	
$K_3$	0.002 9	0.003 4	0.002 8	
<i>R</i>	0.001 3	0.002 8	0.000 6	

直观分析表明,各因素对醇沉工艺的影响程度为  $F > E$ ,确定最佳醇沉条件为  $E_3F_2$ ,即浓缩液相对

密度  $1.05 g \cdot mL^{-1}$ ,醇沉浓度 60%。

**2.5 验证试验** 称取 1/10 处方量药材,按优选的水提醇沉工艺进行 3 次验证试验,结果大黄酸、大黄素、大黄酚的总质量浓度分别为 0.019 8,0.019 5,0.021 0  $g \cdot L^{-1}$ ,表明优选的工艺稳定可行。

### 3 讨论

健胃清肠合剂处方配制的制剂品种在市场上尚无供应,对健胃清肠合剂质量标准的研究也未见报道,具有一定的新颖性。出膏率与产品生产及质量关系密切<sup>[11]</sup>。大黄为健胃清肠合剂处方中主药,因此选择大黄中大黄酸、大黄素、大黄酚含量及干膏得率为评价指标。

### [参考文献]

- [1] 杨维建,李娟,张超,等. 健胃清肠合剂对小鼠肠管运动及胃黏膜的影响[J]. 西部中医药,2012,25(8):20.
- [2] 杨维建,李娟,汪佳明. 健胃清肠合剂在腹部外科手术前肠道准备中的应用[J]. 中医药导报,2011,17(10):37.
- [3] 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,2010:22.
- [4] 黄小瑜,黄诺嘉. 胆石通胶囊质量标准提高研究[J]. 中成药,2009,31(4):558.
- [5] 闵云山,焦正花,张小华. RP-HPLC 测定止痛膏中大黄酸、大黄素和大黄酚的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2011,19(7):52.
- [6] 徐韧柳,刘会英. RP-HPLC 测定珍黄散中大黄素和大黄酚的含量[J]. 中成药,2004,26(2):107.
- [7] 朱艳容,李媛媛,李先荣,等. RP-HPLC 法测定扶正固本颗粒中大黄素[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):69.
- [8] 韩燕全,洪燕,夏伦祝,等. 高效液相色谱法同时测定黄芩抗栓胶囊中 5 种大黄成分的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(6):47.
- [9] 闫小平,郭宇洁,郑蕊,等. 多指标综合评分法考察肠安 I 号方醇提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):12.
- [10] 王钰莹,冯伟红,杨菲,等. “一测多评”法测定三黄片中的大黄蒽醌类成分[J]. 中国中药杂志,2012,37(2):212.
- [11] 陈燕芬,陈丽娟,谢文健. 出膏率在控制膏方煎煮方面的正交研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(11):11.

[责任编辑 仝燕]