

正交试验法优选益肾膏滋制备工艺

伍小燕, 黄权芳*, 唐爱存

(广西中医学院第一附属医院药学部, 南宁 530023)

[摘要] 目的: 优选益肾膏滋制备工艺。方法: 以加水量、提取时间、提取次数为考察因素, 淫羊藿苷含量、浸膏得率为指标, 采用正交试验法优选益肾膏滋制备工艺。结果: 最佳制备工艺为加 10 倍量水提取 2 次, 每次煎煮 1.5 h。结论: 优选的制备工艺合理可行、稳定可控, 可为制备其他膏滋提供参考。

[关键词] 益肾膏滋; 制备工艺; 淫羊藿苷; 正交试验

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)09-0040-03

Optimization of Preparation Process for Yishen Decoction Agent by Orthogonal Test

WU Xiao-yan, HUANG Quan-fang*, TANG Ai-cun

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530023, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize preparation technology of Yishen decoction agent. **Method:** With the amount of water, extraction time and extraction times as investigating factors, the content of icariin and yield of extract as indexes, preparation technology of Yishen decoction agent was optimized by orthogonal test. **Result:** Optimum preparation technology was: extracted 2 times with 10 times the amount of water, extracted 1.5 h each time. **Conclusion:** Optimized preparation technology was reasonable, feasible, stable and controllable, it could provide reference for preparation of other decoction agent.

[Key words] Yishen decoction agent; preparation technology; icariin; orthogonal test

益肾膏滋由菟丝子、淫羊藿、黄芪等多味中药配伍而成, 具有益气滋肾、强腰健骨的功效, 用于治疗慢性肾脏病史、耳鸣、眩晕健忘、腰膝酸软、头发早白等症。为保证益肾膏滋质量, 增加其质量稳定性, 本研究以加水量、提取时间及提取次数为可变因素, 以淫羊藿苷含量和出膏率作为考核指标, 采用正交试验方法探讨益肾膏滋的最佳制备工艺, 为规范益肾膏滋制备工艺提供参考。

1 材料

高效液相色谱仪(美国 Waters, 1525 型并联泵, 2487 型双波长紫外检测器, Breeze 工作站), BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯), 药材均购自广西南宁市医药公司, 经我院黄权芳主管中药师鉴定, 均符合《中国药典》2010 年版规定。淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110781-200512), 硅胶 G(青岛海洋化工厂), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。益肾膏滋(自制, 批号分别为 201107-1, 201107-2, 201107-3)。

2 方法与结果

2.1 正交设计^[1-2] 根据益肾膏滋组方特点, 采用正交试验方法对其制备工艺进行优选, 以加水量、提取时间和次数为考察因素, 淫羊藿苷含量和得膏率为考核指标, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 因素水平见表 1。

[收稿日期] 20111209(005)

[基金项目] 广西壮族自治区中医药管理局项目(GZZC0915)

[第一作者] 伍小燕, 主任中药师, 学士, 从事药事管理与中药制剂研究, Tel: 0771-5848631, E-mail: gzyyxb@163.com

[通讯作者] * 黄权芳, 主管中药师, 硕士学位, 从事中药鉴定及开发研究, Tel: 0771-5645433, E-mail: hqf00@163.com

表1 益肾膏滋提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 煎煮次数/次	C 煎煮时间/h
1	8	1	0.5
2	10	2	1
3	15	3	1.5

2.2 淫羊藿含量测定^[3-5]

2.2.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, Symmetry C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(30:70), 检测波长 270 nm, 柱温 27 °C, 流速 1 mL·min⁻¹, 理论塔板数按淫羊藿苷峰计算不低于 1 500。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇制成质量浓度 0.1 g·L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液制备 取本品已干燥至恒重的干浸膏, 精密称定 5 g, 置于 25 mL 量瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 超声处理 3 次, 每次提取 20 min, 甲醇补足减少质量, 定容至 25 mL, 过滤, 即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取 2.2.2 项下淫羊藿苷对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9, 11 μL 进样, 按上述色谱条件测定峰面积。以淫羊藿苷进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 对淫羊藿苷进样量回归计算, 得回归方程为 $Y = 3.3 \times 10^6 X - 1.9 \times 10^4$ ($r = 0.9998$), 淫羊藿苷在 0.016 ~ 1.38 μg 有良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 分别精密吸取淫羊藿苷对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 按 2.2.1 项下色谱条件测定淫羊藿苷峰面积值, 结果淫羊藿峰面积 RSD 1.05%, 表明该方法精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液液于 0, 2,

8, 16, 24 h 分别进样 10 μL, 按 2.2.1 项下色谱条件测定淫羊藿苷峰面积值, 结果淫羊藿苷峰面积 RSD 1.06%, 表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 分别取同一批号制剂(批号 201008-2) 共 6 份, 每份约 0.2 g, 按 2.2.3 项下供试品溶液制备方法制备, 进样, 结果测得淫羊藿苷的平均质量分数为 2.83 mg·g⁻¹, RSD 1.51%, 表明供试品溶液制备方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已测知含量的样品 6 份, 每份 0.1 g, 精密称定, 分别精密加入淫羊藿苷对照品溶液 8 mL, 按供试品溶液的制备方法制备, 进样 5 μL, 记录色谱图, 结果见表 2。

表2 淫羊藿苷加样回收率试验

取样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.1006	0.599	0.606	1.198	98.84		
0.1020	0.609	0.606	1.207	98.68		
0.1130	0.615	0.606	1.211	98.35	97.14	2.09
0.1048	0.611	0.606	1.183	94.39		
0.1005	0.601	0.606	1.199	98.68		
0.1106	0.612	0.606	1.181	93.89		

2.3 浸膏得率测定 按 L₉(3⁴) 正交试验表进行试验, 称取按益肾膏滋处方 1/10 量药材进行提取, 滤过, 合并滤液, 浓缩至一定量体积(V)。分别精密吸取等量浓缩液 25 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中(W₁), 水浴蒸干, 105 °C 下干燥 3 h, 移至干燥器中, 冷却 30 min, 迅速精密称其质量(W₂), 按以下公式计算浸膏得率, 正交试验结果见表 3, 方差分析见表 4。

$$\text{浸膏得率} = \frac{(W_2 - W_1) \times V}{25 \times \text{药材质量}} \times 100\%$$

表3 益肾膏滋提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	浸膏得率/%	淫羊藿苷/%	综合评分
1	1	1	1	1	17.01	1.604	38.91
2	1	2	2	2	22.10	8.547	93.70
3	1	3	3	3	20.34	8.986	93.72
4	2	1	2	3	20.23	2.098	47.54
5	2	2	3	1	24.13	8.318	95.54
6	2	3	1	2	20.05	4.594	63.91
7	3	1	3	2	19.66	2.169	47.07
8	3	2	1	3	19.43	3.507	55.63
9	3	3	2	1	21.92	4.389	65.64
K ₁	75.443	44.507	52.817	66.697			
K ₂	68.997	81.623	68.960	68.227			
K ₃	56.113	74.423	78.777	65.630			
R	19.330	37.116	25.960	2.597			

注:以浸膏得率权重系数为 40, 淫羊藿苷权重系数为 60, 得到综合评分。

表 4 益肾膏滋提取工艺综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	581.189	2	290.595	56.862	<0.05
B	2324.494	2	1162.247	227.423	<0.01
C	1030.896	2	515.448	100.861	<0.01
误差	10.22	2	5.11		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00, F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

由表 3,4 可知,加水量、提取次数、煎煮时间对益肾膏滋的浸膏得率和淫羊藿苷含量的影响均具有显著性意义,是制备工艺的主要影响因素,各因素对益肾膏滋提取工艺的影响主次为 $B > C > A$ 。综合以上因素,益肾膏滋的最佳提取条件确定为 $A_2B_2C_3$,即加 10 倍量水提取 2 次,每次煎煮 1.5 h。

2.4 验证试验 根据优选工艺取 3 批制剂进行验证试验,测得出膏率分别为 24.05%, 24.10%, 24.03%; 淫羊藿苷质量分数分别为 8.85%, 8.98%, 8.89%。说明优选工艺稳定、可行。

3 讨论

益肾膏滋为我院常用院内制剂,多年临床应用表明,该膏剂用于治疗慢性肾脏病、耳鸣,眩晕健忘、腰膝酸软、头发早白等病症效果良好。复方中药由于其成分非常复杂,制成的中药制剂质量易受药材质量、制剂工艺等因素的影响。为保证益肾膏滋质

量,以便更好地推广于临床应用,优化其制备工艺并建立其质量标准显得极为重要。本课题组前期研究发现,益肾膏滋制备工艺重点在于收膏,标准是成挂旗或滴水成珠,主要与天气有关,干燥及低温天气时收膏可稀点,湿度大及高温天气收膏稠度要高,分装应趁热装入容器,以免冷却后黏锅,切勿在热时加盖,以免水蒸气冷凝回滴,久贮易产生霉变。

[参考文献]

[1] 李祥,陈长勋,郑冰. 正交试验法优选加減玉女煎的提取工艺[J]. 中成药,2011,33(1):176.

[2] 高珊,陈占科,王淑美,等. 正交试验法优选转输颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):40.

[3] 徐文芬,何顺志,黄敏,等. 高效液相色谱法测定贵州产淫羊藿药材不同药用部位中淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(5):1.

[4] 牛德斌,张村. 高效液相色谱法测定乳安胶囊中淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2007, 13(5):13.

[5] 贺石麟,牛景霞,倪艳. 淫羊藿中淫羊藿苷和总黄酮的闪式提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):38.

[责任编辑 仝燕]

欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,288 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com。