

正交试验优选健胃消食口崩片提取工艺

季巧遇,李诒光,刘旭海*,乐渝宁
(江中药业股份有限公司,南昌 330029)

[摘要] 目的:优化健胃消食口崩片的提取工艺。方法:通过正交试验,以橙皮苷提取率、绿原酸提取率和干膏得率为指标,考察加水量、煎煮时间和煎煮次数对提取效果的影响。结果:健胃消食口崩片的最佳提取工艺为煎煮 2 次,第 1 次加 6 倍量水煎煮 2 h,第 2 次加 5 倍量水煎煮 1 h。结论:最佳提取工艺合理、稳定、可行。

[关键词] 健胃消食口崩片;正交试验;提取工艺;橙皮苷;绿原酸

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0012-04

Optimization of Extraction Technology of Jianwei Xiaoshi Orally Disintegrating Tablet by Orthogonal Test

Ji Qiao-yu, Li Yi-guang, Liu Xu-hai*, Le Yu-ning
(Jiangzhong Pharmaceutical Co. Ltd, Nanchang 330029, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of Jianwei Xiaoshi orally disintegrating tablet. **Method:** Orthogonal test was used for optimizing extraction technology of Jianweixiaoshi orally disintegrating tablet with extract yield of hesperidin, chlorogenic acid and dry extract as indexes. Three factors were investigated including the amount of water, extraction time and extraction times. **Result:** Optimum extraction technology was as follows: boiled 2 times, first with 6 times amount of water for 2 h and then boiled with 5 times amount of water for 1 h. **Conclusion:** Optimized technology was reasonable, stable and reliable.

[Key words] Jianwei Xiaoshi orally disintegrating tablet; orthogonal test; extraction technology; hesperidin; chlorogenic acid

健胃消食片收载于《中国药典》2010 年版一部,由太子参、陈皮、山药、麦芽(炒)、山楂组成,具有行气消食、健脾开胃、生津益肺之功效,用于脾虚体倦、消化不良、病后虚弱等症的治疗,疗效确切。健胃消食口崩片是根据健胃消食片的药物处方改进而成,拟用于咀嚼功能较差的老人或儿童等。在健胃消食

片制法中将山药与半量太子参打粉入药,余下药材用水提取后制成片剂。但药粉入药口感差、服用剂量大,降低了患者对健胃消食口崩片的顺应性。为了克服这些缺点,改为全方水提取。预试验表明,煎煮次数、加水量及煎煮时间为影响提取效果的主要因素。本文以橙皮苷提取率、绿原酸提取率及干膏得率为考察指标,采用正交试验设计,优选水提工艺条件,为健胃消食口崩片的研究提供基础。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),橙皮苷、绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110721-200210,107532-200212),甲醇、乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯,太子参、陈皮、山药、麦芽(炒)、山楂(安徽省亳州市中信中药饮片厂,经江西中医学院中

[收稿日期] 20110830(002)

[基金项目] 江西省科技厅学术带头人培养计划(2009DD00400)

[第一作者] 季巧遇,硕士,副主任药师,从事中药新剂型与新制剂的研究, Tel: 0791-88112859, E-mail: jqy@jzjt.com

[通讯作者] *刘旭海,硕士,主任药师,从事中药新制剂研究, Tel: 0791-8164007, E-mail: lxh@jzjt.com

药鉴定教研室褚小兰教授鉴定,符合《中国药典》2010年版一部有关各项规定)。

2 方法与结果

2.1 橙皮苷含量测定^[1]

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.5% 冰醋酸溶液(40:60), 检测波长 283 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。理论板数按橙皮苷峰计算 > 2 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷对照品 7.80 mg 至 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得 312 mg·L⁻¹ 橙皮苷对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取提取浓缩液适量, 精密称定, 置蒸发皿中, 水浴蒸至快干时, 加入硅藻土 1 g, 拌匀, 转移至 50 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 置水浴上加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.1.4 标准曲线绘制 分别吸取 312 mg·L⁻¹ 橙皮苷对照品溶液适量, 配制成 249.6, 124.8, 62.4, 31.2, 15.6 mg·L⁻¹ 的系列橙皮苷对照品溶液, 精密吸取 5 μL 进样, 记录峰面积, 以橙皮苷峰面积对进样量线性回归。回归方程为 $Y = 1\,942.5X - 11.9$ ($R^2 = 0.999\,9$), 结果表明, 橙皮苷在 0.078 ~ 1.248 μg 线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 精密吸取同一橙皮苷对照品溶液 5 μL, 重复进样 6 次, 记录峰面积, RSD 0.51%, 表明本方法精密度良好。

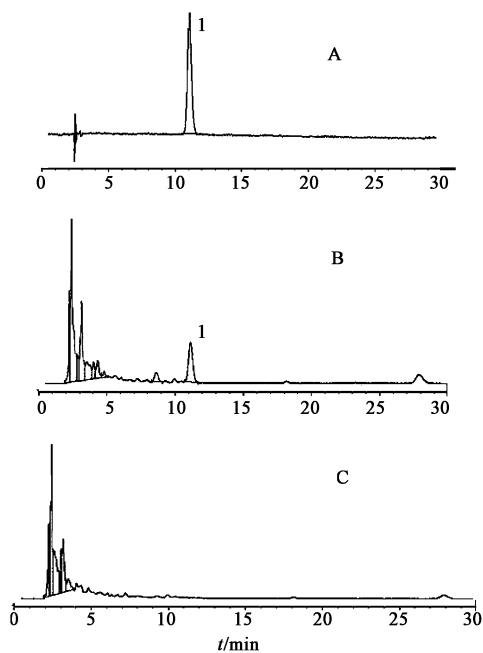
2.1.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 每隔 2 h 进样 5 μL, 记录峰面积, RSD 0.8%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.1.7 重复性试验 取同一份浓缩液按同法制备 5 份供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积, 计算其含量, RSD 1.53%, 表明本法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 取已知橙皮苷含量(134.62 mg·L⁻¹)的浓缩液适量(6份), 精密称定, 分别精密加入 312 mg·L⁻¹ 的橙皮苷对照品溶液 2 mL, 按上述供试品溶液制备方法制备, 测定其含量, 结果平均回收率为 99.28%, RSD 1.50%。

2.1.9 空白干扰试验 取缺陈皮的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制成缺陈皮的阴性对照溶液, 精密吸取橙皮苷对照品、供试品及阴性对照各 5

μL, 注入高效液相色谱仪测定, 结果表明在与橙皮苷相应保留时间处无干扰, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 缺陈皮阴性样品; 1. 橙皮苷

图 1 健胃消食口崩片橙皮苷 HPLC

2.2 绿原酸含量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.5% 冰醋酸溶液(9:91), 检测波长 326 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C。

2.2.2 对照品储备液的制备 精密称取绿原酸对照品 8.34 mg 至 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得 333.6 mg·L⁻¹ 绿原酸对照品储备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取提取浓缩液适量, 精密称定, 置蒸发皿中, 水浴蒸至快干时, 加入硅藻土 1 g, 拌匀, 转移至 50 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 置水浴上加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.2.4 标准曲线绘制 分别精密吸取绿原酸对照品储备液 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制备 3.336, 6.672, 13.344, 26.688, 53.376 mg·L⁻¹ 系列溶液, 分别精密吸取 5 μL 进样, 记录峰面积, 以绿原酸峰面积对进样量线性回归, 回归方程为 $Y = 2\,701.2X + 1.2$ ($R^2 = 0.999\,8$)。结果表明绿原酸在 0.0167 ~

0.266 7 μg 线性关系良好。

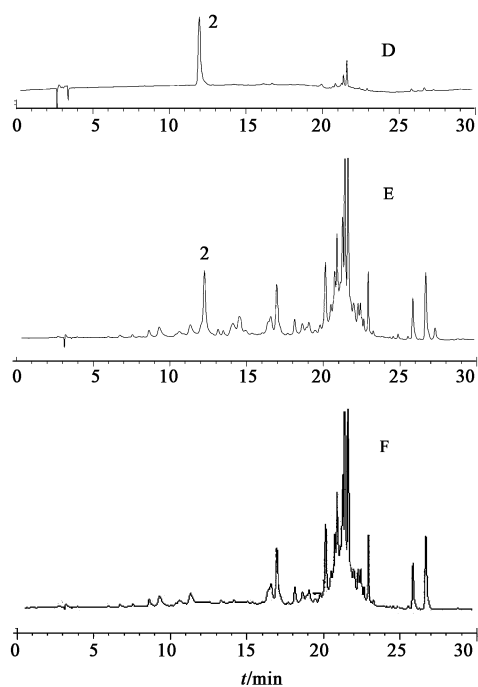
2.2.5 精密度试验 精密吸取同一绿原酸对照品溶液($13.344 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) $5 \mu\text{L}$,重复进样 6 次,记录峰面积,RSD 0.97%,表明本方法精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,每隔 2 h 进样 $5 \mu\text{L}$,记录峰面积,RSD 0.74%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一份浓缩液,制备 5 份供试品溶液,按上述色谱条件测定,记录峰面积,计算其含量,结果 RSD 2.47%,表明本法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知绿原酸含量($0.98 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的浓缩液适量(6 份),精密称定,分别精密加入 $26.688 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的绿原酸对照品溶液 2 mL,按上述供试品溶液制备方法制备,测定其含量,计算回收率。结果平均回收率为 98.30%,RSD 2.14%。

2.2.9 空白干扰试验 取缺山楂的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制成缺山楂的阴性对照溶液,精密吸取绿原酸对照品、供试品及阴性对照各 $5 \mu\text{L}$,注入高效液相色谱仪测定,结果表明,在与绿原酸相应保留时间处无干扰,见图 2。



D. 对照品;E. 供试品;F. 缺山楂阴性样品;2. 绿原酸
图 2 健胃消食口崩片绿原酸 HPLC

2.3 干膏得率的测定 精密吸取提取液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干后,于 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥 3 h 至恒重,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称

定质量,计算干膏得率。

2.4 正交试验 通过预试验,发现加水量、煎煮次数及煎煮时间对提取效果影响明显,以橙皮苷提取率、绿原酸提取率及干膏得率为考察指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,优选提取工艺参数,因素水平表见表 1。

表 1 健胃消食口崩片提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮次数/次
1	4	1	1
2	6	2	2
3	8	3	3

根据药物处方比例称取各种药材共 142 g 9 份,按表 2 条件加水提取,药液经 160 目筛滤过,滤液浓缩至适量,采用确定的测试方法,检测浓缩液中橙皮苷、绿原酸含量,计算其提取率,同时测定浓缩液的干膏得率,运用 SPSS 软件并对结果进行统计分析,结果见表 2。

表 3~5 方差分析结果表明当以橙皮苷提取率为考察指标时,因素 C 对橙皮苷的提取率有显著性影响,因素 A、B 对橙皮苷提取率无显著性影响,各因素作用主次为 $C > A > B$ 。由直观分析结果可知,最佳提取工艺组合为 $A_3B_2C_3$,次优组合为 $A_3B_1C_3$ 。

当以绿原酸提取率为考察指标时,A、B、C 各因素对绿原酸提取率均无显著性影响。由直观分析结果可知,最佳工艺组合为 $A_3B_1C_2$ 。

当以干膏得率为考察指标时,因素 C 对干膏得率有显著性影响,因素 A、B 对干膏得率无显著性影响,各因素作用主次为 $C > A > B$ 。由直观分析结果可知,最佳提取工艺组合为 $A_3B_1C_3$,次优组合为 $A_2B_2C_3$ 。

综合平衡分析:由于 A、B 两因素对提取效果无显著性影响,可选择任一水平,C 因素虽有显著性影响,但 C_2 与 C_3 两水平之间无显著性差异,故结合大生产降低能耗综合考虑,最终确定水提工艺参数为煎煮 2 次,第 1 次加 6 倍量水,煎煮 2 h,第 2 次加 5 倍量水,煎煮 1 h。

2.5 验证试验 根据所确定的最佳工艺进行了 3 次验证试验,结果橙皮苷、绿原酸平均提取率分别为 33.08%,84.56%,干膏平均得率为 17.97%。验证结果与正交试验结果基本一致,表明该工艺稳定可行。

表2 健胃消食口崩片提取工艺正交试验安排及结果

No.		A	B	C	D	橙皮苷提取率	绿原酸提取率	干膏得率
						/%	/%	/%
1		1	1	1	1	18.95	41.17	7.68
2		1	2	2	2	31.25	68.71	15.61
3		1	3	3	3	31.96	54.52	16.58
4		2	1	2	3	32.74	83.05	17.51
5		2	2	3	1	36.58	56.66	19.21
6		2	3	1	2	20.53	43.94	9.21
7		3	1	3	2	35.76	93.61	20.18
8		3	2	1	3	21.78	62.26	8.96
9		3	3	2	1	33.15	66.07	16.95
橙皮苷提取率	K_1	82.16	87.45	61.26	88.48			
	K_2	89.85	89.61	97.14	87.54			
	K_3	90.69	85.64	104.3	86.47			
	R	8.53	3.97	43.04	2.01			
绿原酸提取率	K_1	164.4	217.83	147.37	163.9			
	K_2	183.65	187.63	217.83	206.26			
	K_3	221.94	164.53	204.79	199.83			
	R	57.54	53.3	70.46	42.36			
干膏得率	K_1	39.87	45.37	25.85	43.84			
	K_2	45.93	43.78	50.07	45.00			
	K_3	46.09	42.74	55.97	43.05			
	R	6.22	2.63	30.39	1.95			

表3 橙皮苷方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	14.73	2	7.37	18.26	0.52
B	2.63	2	1.32	3.26	0.24
C	354.57	2	177.28	439.35	0.02
D	0.81	2	0.40		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$; $F_{0.01}(2,2) = 99$ (表4,5同)。

表4 绿原酸方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	571.95	2	285.97	1.65	0.38
B	476.28	2	238.14	1.37	0.42
C	936.86	2	468.43	2.70	0.27
D	347.41	2	173.70		

表5 干膏率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	8.38	2	4.19	13.069	0.07
B	1.17	2	0.59	1.82	0.35
C	169.85	2	84.92	264.83	0.004
D	0.64	2	0.32		

3 讨论

太子参为本方君药,但其所含化学成分无含测对照品,无法对其进行质量控制。原片剂以陈皮药材中橙皮苷为含测指标成分,其含量测定方法成熟、可靠,但考虑到橙皮苷难溶于水,水煎提取率较低,因此增加了山楂中的绿原酸作为考察指标,以便更好地反映提取效果。采用优选的水提工艺所得的提取物服用剂量较原健胃消食片明显降低,有利于口崩片的成型和提高患者的顺应性。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:1000.
- [2] 杨晓云,吴爱英,庞靖.高效液相色谱法测定医用漱口水中绿原酸的含量[J].中国医院药学杂志,2005,25(9):892.

[责任编辑 全燕]