

乳安凝胶膏剂的提取工艺

常星洁¹, 刘志辉², 刘汉清^{1*}, 傅静娟²

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 南京中医药大学一附院, 南京 210036)

[摘要] 目的: 优选乳安凝胶膏剂的提取工艺。方法: 以淫羊藿苷和淫羊藿总黄酮、延胡索乙素含量为指标, 采用正交试验进行工艺优选。结果: 淫羊藿提取工艺为以 15 倍量水提取 3 次, 每次 1 h。淫羊藿苷和总黄酮的转移率分别为 62.64%、83.83%。延胡索提取工艺为以 10 倍量 50% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h。延胡索乙素的转移率为 93.27%。结论: 该提取工艺节约能源、稳定可行。

[关键词] 乳安凝胶膏剂; 淫羊藿苷; 延胡索乙素; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0031-04

Extraction Process of Ru'an Gel Cream

CHANG Xing-jie¹, LIU Zhi-hui², LIU Han-qing^{1*}, FU Jing-juan²

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. The First Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210036, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction process of Ru'an gel cream. **Method:** The optimum extraction process was selected by orthogonal test. The content of icariin, total flavones from Epimedh Folium and tetrahydropalmatine as indexes. **Result:** Extraction process of Epimedh Folium was as follows: reflux extract 3 times with 15 times of water, 1 h per time. Extraction process of Corydalis Rhizoma was as follows: reflux extract 3 times

[收稿日期] 20110115(004)

[第一作者] 常星洁, 硕士研究生, 从事药剂学研究, E-mail: lily_chang@foxmail.com

[通讯作者] * 刘汉清, 博士生导师, 从事中药新剂型新制剂研究, Tel: 025-85811517, E-mail: hqliu636@yahoo.com.cn

2.5 稳定性试验 取供试品溶液, 在室温下放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 测定。结果表明, 岩白菜素在 8 h 内基本稳定, 记录各峰面积, RSD 0.86%。

2.6 精密度试验 取岩白菜素对照品溶液, 按上述色谱条件, 重复进样 5 次, 测定峰面积并计算其相对 RSD 0.54%。

2.7 回收率试验 采用加样回收法, 取适量样品, 加入岩白菜素对照品适量, 按上述色谱条件测定。结果平均回收率为 98.13%, RSD 2.66%。

2.9 验证试验 按最佳工艺验证 3 批, 所得药液同前法处理, 测定总干膏中岩白菜素的含量分别为 321.67, 316.39, 317.88 mg。其干浸膏中总岩白菜素的含量基本稳定, 说明工艺较稳定。

3 讨论

根据处方中药物成分的性质和文献资料对方药物的现代药理学研究, 结合临床用药要求, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计筛选出最佳工艺。研究结果表明该提取工艺科学、合理、可行。另外 2010 年版《中国药典》采用紫外-可见分光光度计法测定岩白菜素的含量, 考虑到复方制剂各成分的干扰, 本文选择了专属性更强的高效液相色谱法。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:184.
- [2] 苏明武, 柳俊, 姚雪莲, 等. 效液相色谱法测定银仙通肺宝颗粒中岩白菜素的含量[J]. 药学实践杂志, 2008, 26(1):51.

[责任编辑 全燕]

with 15 times of 50% ethanol, 1.5 h per time. The transfer rate of icariin, total flavones from Epimedh Folium and tetrahydropalmatine were 62.64%、83.83% and 93.27%. **Conclusion:** The optimum extraction technology is resource-saving, stable and practicable.

[**Key words**] Ru'an gel cream; icariin; tetrahydropalmatine; extraction process

乳安凝胶膏剂来源于江苏省中医院经验方,由淫羊藿、延胡索等 4 味药组成,临床用于治疗乳腺增生症。淫羊藿和延胡索皆为方中君药,共奏调节脏腑和气血阴阳、行气止痛之功。试验采用正交试验设计,以淫羊藿苷和淫羊藿总黄酮、延胡索乙素转移率为指标,对淫羊藿和延胡索的提取工艺进行优选。

1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Waters 2695 型高效液相色谱仪, Cary50 型紫外分光光度计(美国瓦里安公司), BP-211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

淫羊藿和醋延胡索均购自安徽协和成药业饮片有限公司,经江苏省中医院周琴妹主任中药师鉴定为朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* 的干燥地上部分,罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* 的干燥块茎醋制品。淫羊藿苷和延胡索乙素对照品(批号分别为 0737-9910, 110726-200409)购自中国药品生物制品检定所。甲醇和乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 淫羊藿的提取工艺优选^[1-2]

2.1.1 淫羊藿苷含量测定

2.1.1.1 色谱条件 Hadera-ODS2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(28:72), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温 25 °C。

2.1.1.2 对照品溶液的制备 精密称取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇配制成质量浓度为 104.3 mg·L⁻¹ 的对照品贮备液。取该贮备液 1 mL 加甲醇稀释成 10.43 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.1.3 标准曲线的制备 取上述对照品溶液,按进样体积 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 35 μL 依次进样,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,将测得的实验数据进行回归分析,得回归方程 $Y = 2 \times 10^6 X - 6341$ ($r = 1.00$),表明淫羊藿苷在 0.031 3 ~ 0.365 1 μg 与峰面积的线性关系良好。

2.1.1.4 供试品溶液的制备与测定 精密吸取淫羊

藿提取液 1 mL 置 50 mL 量瓶中,甲醇定容,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,得供试品溶液。精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪,测定淫羊藿苷含量。

2.1.2 淫羊藿总黄酮含量测定

2.1.2.1 对照品溶液的制备 同 2.1.1.2 项下方法。

2.1.2.2 标准曲线的制备 取上述淫羊藿苷对照品贮备液,分别加甲醇稀释成 2.086, 4.172, 6.258, 10.43, 12.516, 16.688 mg·L⁻¹ 的对照品溶液,以甲醇为空白,270 nm 波长处测定样品中淫羊藿总黄酮吸收度。以样品质量浓度(C)为横坐标,吸收度(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A = 0.0372C + 0.0529$ ($r = 0.9995$),表明淫羊藿总黄酮在 2.086 ~ 16.688 mg·L⁻¹ 与吸收度呈良好线性。

2.1.2.3 供试品溶液的制备与测定 精密吸取淫羊藿提取液 0.5 mL 置 50 mL 量瓶中,甲醇定容,摇匀,0.45 μm 滤膜滤过后得供试品溶液。分别取供试品溶液和对照品溶液,以甲醇为空白对照,于 270 nm 处测定吸光度,算得总黄酮含量。

2.1.3 提取溶剂的选择 取淫羊藿饮片 5 份,每份 15 g,分别加水及 30% 乙醇, 50% 乙醇, 70% 乙醇, 90% 乙醇 15 倍量,加热回流 1 h,提取 2 次,合并滤液。按 2.1.1 项下方法测得淫羊藿苷含量,计算淫羊藿苷转移率依次为 65.38%, 53.03%, 54.37%, 50.63%, 50.27% (淫羊藿苷转移率 = 淫羊藿苷提取量/药材中淫羊藿苷含量 × 100%)。结果表明淫羊藿水提效果优于醇提,且成本较低,故采用水作为提取溶媒。

2.1.4 正交试验设计筛选最佳提取工艺

2.1.4.1 提取因素及水平的确定 拟以加水倍量,提取时间,提取次数为主要考察因素,选用 L₉(3⁴) 正交表进行试验,各因素的相关水平见表 1。

2.1.4.2 提取方法及结果 称取淫羊藿饮片 15 g,共 9 份,加水按照正交设计条件提取,将提取液滤过、合并。按 2.1.1 和 2.1.2 项下含量测定方法测定淫羊藿苷和总黄酮的含量,并采用综合评分,综合

表1 淫羊藿提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水倍量/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次
1	12	0.5	1
2	15	1.0	2
3	18	1.5	3

评分 = (淫羊藿苷转移率/100%) × 0.6 + (总黄酮转移率/100%) × 0.4。结果见表2,3。

结果表明加水倍量、提取时间和提取次数对淫羊藿苷和总黄酮转移率均有显著影响,重要性排序为 $C > A > B$, 优选工艺为 $A_2B_2C_3$, 即 15 倍水提取 3 次, 每次 1 h。

表2 淫羊藿提取工艺正交试验

No.	A	B	C	D(空白)	淫羊藿苷转移率/%	总黄酮转移率/%	综合评分
1	1	1	1	1	25.17	40.70	0.31
2	1	2	2	2	53.05	44.38	0.49
3	1	3	3	3	75.08	39.30	0.61
4	2	1	2	3	50.26	42.22	0.47
5	2	2	3	1	62.64	83.83	0.71
6	2	3	1	2	45.69	56.81	0.50
7	3	1	3	2	59.78	69.10	0.64
8	3	2	1	3	54.70	54.45	0.55
9	3	3	2	1	74.70	56.30	0.67
K_1	1.41	1.42	1.36	1.69			
K_2	1.68	1.75	1.63	1.63			
K_3	1.86	1.78	1.96	1.63			
R	0.15	0.12	0.2	0.02			

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.034 2	2	0.017 1	42.75	<0.05
B	0.026 6	2	0.013 3	33.25	<0.05
C	0.060 2	2	0.030 1	75.25	<0.05
D(空白)	0.000 8	2	0.000 4		

2.1.4.3 验证试验 取淫羊藿饮片 3 份, 每份 150 g, 按上述优选工艺条件进行提取, 并测定提取液中淫羊藿苷和总黄酮含量, 测得淫羊藿苷转移率分别为 61.33%, 63.50%, 64.58%, RSD 2.62%; 总黄酮转移率分别为 85.91%, 84.66%, 83.14%, RSD 1.64%。结果表明该工艺稳定可行。

2.2 延胡索的提取工艺优选^[3-4]

2.2.1 延胡索乙素含量测定

2.2.1.1 色谱条件 Heder-OADS2 C_{18} 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 流动相 甲醇-0.1% 磷酸水 (三乙胺调 pH 6.5) (65:35), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C。

2.2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品适量, 加甲醇配制成 44.84 mg·L⁻¹ 的对照品溶液, 备用。

2.2.1.3 标准曲线的制备 取上述对照品溶液, 按进样体积 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30 μ L 依次进样, 以进

样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行回归分析后得方程 $Y = 10.54X + 7.0967$ ($r = 1.00$)。结果表明延胡索乙素在进样量 0.013 5 ~ 0.134 5 μ g 与峰面积的线性关系良好。

2.2.1.4 供试品溶液的制备与测定 精密吸取延胡索提取液 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 0.45 μ m 滤膜滤过后得供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 测定延胡索乙素含量。

2.2.2 延胡索的提取工艺优选

2.2.2.1 提取溶剂的选择 取醋延胡索饮片 4 份, 每份 15 g, 分别加水, 50% 乙醇, 70% 乙醇, 90% 乙醇 10 倍量, 加热回流 2 次, 每次 1 h。按 2.2.1 项下含量测定方法测得延胡索乙素含量, 经计算转移率依次为 39.40%, 83.36%, 78.40%, 55.14% (延胡索乙素转移率 = 延胡索乙素提取量/药材中延胡索乙素含量 × 100%)。可知 50% 乙醇提取效果最好, 故采用 50% 乙醇作为溶媒。

2.2.2.2 提取因素及水平的确定 拟以 50% 乙醇倍量, 提取次数, 提取时间为主要考察因素, 各因素的相关水平见表 4。

2.2.2.3 提取方法及结果 称取醋延胡索饮片 15 g, 共 9 份, 按照正交设计条件提取, 将提取液滤过、

表 4 延胡索提取工艺正交试验因素水平

水平	A 50% 乙醇倍量/倍	B 提取次数/次	C 提取时间/h
1	5	1	1
2	7	2	1.5
3	10	3	2

合并。按 2.2.1 项下含量测定方法测定延胡索乙素的含量并计算转移率,结果见表 5,6。

表 5 延胡索提取工艺正交试验

No.	A	B	C	D(空白)	延胡索乙素转移率/%
1	1	1	1	1	47.66
2	1	2	2	2	72.78
3	1	3	3	3	82.53
4	2	1	2	3	61.94
5	2	2	3	1	73.41
6	2	3	1	2	70.92
7	3	1	3	2	69.36
8	3	2	1	3	82.90
9	3	3	2	1	93.27
K_1	2.03	1.79	2.01	2.14	
K_2	2.06	2.29	2.28	2.13	
K_3	2.46	2.47	2.25	2.27	
R	0.14	0.23	0.089	0.048	

表 6 延胡索乙素转移率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.037	2	0.019	8.95	>0.05
B	0.082	2	0.041	19.73	<0.05
C	0.014	2	0.007 1	3.40	>0.05
D(空白)	0.004 1	2	0.002 1		

结果表明提取次数对延胡索乙素转移率有显著影响,溶剂倍量、提取时间对其并无显著影响,3 因素重要性排序为 $B > A > C$, 优选工艺为 $A_3B_3C_2$, 即 10 倍 50% 乙醇提取 3 次,每次 1.5 h。

2.2.2.4 验证试验 取醋延胡索饮片 3 份,每份 150 g,按上述优选提取条件进行提取,3 次提取转移率分别为 91.52%,94.10%,93.82%,RSD 1.52%,结果表明该工艺稳定可行。

综上所述,乳安凝胶膏剂方中 2 味主药的提取工艺为淫羊藿以 15 倍水提取 3 次,每次 1 h。延胡索以 10 倍量 50% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.5 h。提取液浓缩后与方中另 2 味药提取所得浸膏按处方比例混合,所得中间体与基质混匀后符合凝胶膏剂成型工艺的要求。

3 讨论

淫羊藿黄酮类化合物具有抗肿瘤、抗炎、增强免疫等多种药理作用,淫羊藿苷是其中主要有效成分之一^[5-6],故权重系数定位 0.6,0.4,具有一定的合理性。

提取溶剂倍量一般比药材吸收量高 3~5 倍,通过对淫羊藿和延胡索的溶剂吸收量进行考察,淫羊藿的吸水量约为原药材量的 4 倍,故正交试验加水量定为 12,15,18 倍;延胡索的 50% 乙醇吸收量较少,故正交试验溶剂倍量定为 5,7,10 倍。

药典方法中延胡索乙素 HPLC 含量测定方法较稳定,但出峰时间长,本试验在药典基础上对流动相进行适当调整,增大有机相比例,出峰时间短,对称性好,无干扰,理论塔板数达到要求。

[参考文献]

- [1] 张峻颖,黄罗生,陈健,等. 淫羊藿醇提工艺研究[J]. 海峡药学,2006,14(1):61.
- [2] 王欣,王婷婷,王海军,等. 淫羊藿中淫羊藿苷提取工艺研究[J]. 中国药房,2009,20(9):671.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010:130.
- [4] 卢耀文,杨中林. 延胡索乙素提取工艺优选研究[J]. 中成药,2008,30(8):1247.
- [5] 王静,李建平,张跃文,等. 淫羊藿药理学研究进展[J]. 中国药业,2009,18(8):60.
- [6] 李婵,王学美. 淫羊藿苷药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2008,33(23):2727.

[责任编辑 仝燕]