

## 正交试验法优选复方芸归颗粒提取工艺

张霞<sup>1,3,4</sup>, 王荣<sup>2\*</sup>, 杨建宏<sup>1,3,4</sup>, 侯延辉<sup>1,3,4</sup>

(1. 宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学中医学院, 银川 750004;  
3. 宁夏回药现代化工程技术研究中心, 银川 750004; 4. 宁夏医药研究所, 银川 750004)

**[摘要]** 目的: 优选复方芸归颗粒处方药材的提取工艺。方法: 以方中君药当归活性成分阿魏酸、枳壳的活性成分柚皮苷提取量为评价指标, 高效液相色谱法定量, 采用  $L_9(3^4)$  正交设计试验法, 对复方芸归颗粒制备过程中的水提取工艺进行研究。结果: 该颗粒剂水提取最佳工艺条件为加水量分别为 12, 10 倍, 浸泡 1 h, 提取 1.5 h。结论: 该提取工艺稳定可行, 适合于工业化生产, 为复方芸归颗粒制剂的研究奠定了基础。

**[关键词]** 复方芸归颗粒; 水提取; 阿魏酸; 柚皮苷; 正交试验; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0035-03

## Extraction Process of Fufang Yungui Granules by Orthogonal Design

ZHANG Xia<sup>1,3,4</sup>, WANG Rong<sup>2\*</sup>, YANG Jian-hong<sup>1,3,4</sup>, HOU Yan-hui<sup>1,3,4</sup>

(1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Ningxia Engineering and Technology Research Center for Modernization of Hui Medicine, Yinchuan 750004, China;  
4. Ningxia pharmaceutical institute, Yinchuan 750004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction process of crude drug from Fufang Yungui granules. **Method:** Using extraction rate of ferulaic acid from angelicae sinensis radix and naringin from aurantii fructus as indexes, HPLC was used to quantitative, optimized process of water extraction by  $L_9(3^4)$  orthogonal design. **Result:** The optimum technology of water extraction was as follows: extracted twice with 12 and 10 times the amount of water, soaked 1 h, extracted 1.5 h each time. **Conclusion:** The optimum extraction technology is stable, feasible and suited for industrialization production. It can settle foundation for preparation of Fufang Yungui granules.

**[Key words]** Fufang Yungui granules; water extraction; ferulaic acid; naringin; orthogonal design; HPLC

便秘是临床常见的胃肠运动障碍性疾病, 严重影响患者的生活质量, 并可诱发或加重其他疾病。西药治疗便秘多采用各种通便剂或促动力药, 但大多治标不治本, 且会带来多种不良反应<sup>[1]</sup>。复方芸归颗粒原方<sup>[2]</sup>为汤剂, 由当归、枳壳、黑芝麻、莱菔子、肉苁蓉等组成, 具有补血润肠, 行气通便的功效,

临床用于治疗血虚便秘症。为保证药品质量, 本研究采用正交设计法优化了复方芸归颗粒处方药材的提取工艺, 为该制剂的进一步开发利用提供帮助。

### 1 材料

L2000 型高效液相色谱仪(日本日立, 包括 L-2130 泵、L-2455 检测器、D-2000 Elite 色谱数据工作站)。

阿魏酸(批号 110773-200907)、柚皮苷(批号 110722-200610)对照品均购于中国药品生物制品检定所, 供含量测定用; 当归、枳壳、黑芝麻、莱菔子、肉苁蓉 5 味中药购自宁夏明德中药饮片有限公司, 经本院陈靖副教授鉴定均为正品, 乙腈为色谱纯, 水为

**[收稿日期]** 20110510(001)

**[基金项目]** 宁夏医科大学特殊人才启动项目(XT200807)

**[第一作者]** 张霞, 硕士, 高级工程师, 从事药物分析研究, Tel: 0951-6880586, E-mail: ydzhx@126.com

**[通讯作者]** \* 王荣, 博士, 讲师, 从事方剂学研究, Tel: 0951-6880527, E-mail: everbrigh365@126.com

超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 指标成分的选择** 本品原方汤剂临床应用效果良好,当归和枳壳为该制剂中的主药。研究表明,当归具有润肠通便的功效<sup>[3]</sup>,枳壳水煎液具有松弛肠管、促进胃肠蠕动的功能<sup>[4]</sup>,这与本颗粒剂的功能主治一致。二者的主要水溶性活性成分为阿魏酸和柚皮苷,本实验选用二者提取率和浸膏得率多重指标进行考察进行工艺优选。

**2.2 吸水率的考察** 按处方比例称取药材适量,加 10 倍水浸泡至透心(6 h),过滤,滤饼称重,计算得药材吸水率为 196% (RSD 1.8%,  $n = 3$ ),因此在第 1 次提取时应多加 2 倍量的水以补足吸水量。

**2.3 正交设计优化工艺** 经预试验确定浸泡时间为 1 h,在此基础上采用正交试验进一步优化提取工艺条件。选择提取时间、加水量、提取次数为考察因素,因素水平见表 1。以有效成分提取率为评价指标,用  $L_9(3^4)$  正交表安排试验。

表 1 复方芸归颗粒处方水提工艺正交试验因素水平

水平	A 提取时间/h	B 加水倍数/倍	C 提取次数/次
1	1	8	1
2	1.5	10	2
3	2	12	3

**2.4 提取试验** 依处方比例称取药材 30 g,共 9 份,按正交试验设计表的安排,分别加水浸泡,第 1 次提取时多加 2 倍量水。煎提,过滤,收集滤液,减压浓缩至约 120 mL,转移至 200 mL 量瓶中,加水定容,备用。

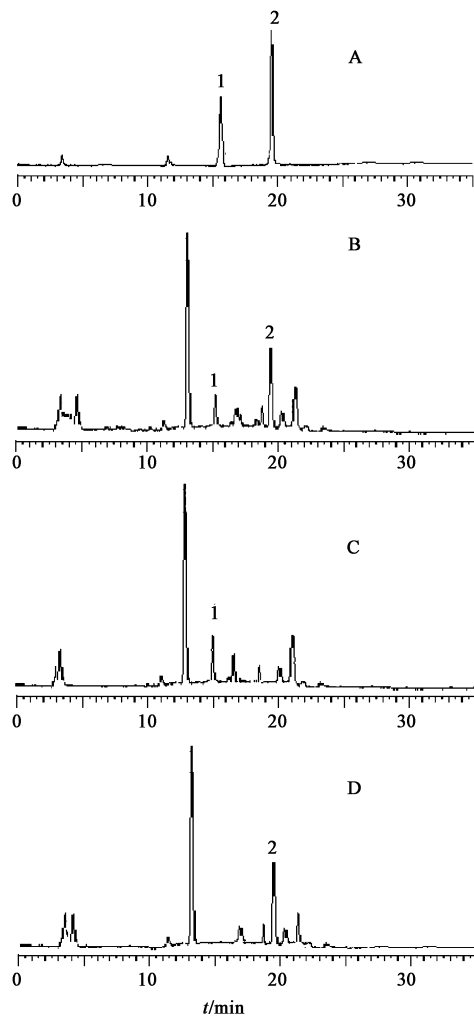
## 2.5 阿魏酸和柚皮苷的含量测定

**2.5.1 对照品贮备溶液的制备** 精密称取经减压干燥的阿魏酸和柚皮苷对照品 7.15 mg 和 9.60 mg,置 10 mL 量瓶中,加 70% 甲醇溶解并定容,摇匀,制成质量浓度分别为 0.071 5, 0.960  $g \cdot L^{-1}$  的混合溶液,即得。

**2.5.2 供试品溶液的制备** 精密量取 2.4 项下所得提取液 0.6 mL,置 5 mL 量瓶中,加水定容,摇匀,用 0.45  $\mu m$  微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

**2.5.3 色谱条件及系统适用性试验** 采用 Thermo ODS-2 Hypersil  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu m$ ),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B),梯度洗脱:0 ~ 15 min, 10% ~ 22% A; 15 ~ 30 min, 22% ~

27% A; 30 ~ 35 min, 27% ~ 10% A。流速 1.0  $mL \cdot min^{-1}$ ,柱温 30  $^{\circ}C$ ,检测波长 310 nm,进样量 10  $\mu L$ 。在此色谱条件下,阿魏酸和柚皮苷与供试品中其他成分达到较好分离。混合对照品及样品溶液的 HPLC 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 缺枳壳阴性样品; D. 缺当归阴性样品;  
1. 阿魏酸; 2. 柚皮苷

图 1 复方芸归颗粒 HPLC

**2.5.4 阴性样品干扰的考察** 按处方比例分别称取不含当归和枳壳的药材,提取后,按 2.5.2 项下方法制备阴性样品溶液并测定(图 1),表明样品中其他成分对测定无干扰。

**2.5.5 标准曲线的绘制** 精密量取对照品贮备溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL,各置 5 mL 量瓶中,加 70% 甲醇定容,摇匀,即得不同浓度的对照品混合溶液。在上述色谱条件下进样测定,以阿魏酸和柚皮苷浓度(C)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,得标准曲线方程分别为  $Y_1 = 12\,574 C_1 + 1\,980$  ( $r =$

0.999 6);  $Y_2 = 36 586 C_2 + 1 300 (r = 0.999 5)$ 。  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

表明阿魏酸和柚皮苷在 1.43 ~ 7.15, 19.2 ~ 96.0 **2.6 正交试验设计及结果** 见表 2。

表 2 复方芸归颗粒处方水提工艺正交试验

No.	A	B	C	D	有效成分提取率/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		综合评分
					阿魏酸(60%)	柚皮苷(40%)	
1	1	1	1	1	0.452(46.8)	10.4(26.3)	73.1
2	1	2	2	2	0.479(50.0)	11.9(30.1)	80.1
3	1	3	3	3	0.501(51.8)	11.7(29.6)	81.4
4	2	1	2	3	0.580(60.0)	11.3(28.6)	88.6
5	2	2	3	1	0.442(45.7)	15.8(40.0)	85.7
6	2	3	1	2	0.497(51.4)	12.0(30.4)	81.4
7	3	1	3	2	0.475(49.1)	12.4(31.5)	80.5
8	3	2	1	3	0.439(45.4)	11.2(28.3)	73.8
9	3	3	2	1	0.480(50.2)	11.9(30.2)	80.4
$K_1$	78.20	80.73	76.10	79.73			
$K_2$	85.23	79.87	83.03	80.67			
$K_3$	78.23	81.07	82.53	81.27			
R	7.03	1.20	6.93	1.53			

注:综合评分 =  $\frac{\text{阿魏酸提取率}}{\text{正交设计表中1的最高提取率}} \times 60 + \frac{\text{柚皮苷提取率}}{\text{正交设计表中2的最高提取率}} \times 40$ 。

对表 2 数据进行直观分析可知,其最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_2$ ,各因素的主次顺序亦为 A, C, B, 其中 A, C 因素经方差分析表明对阿魏酸和柚皮苷提取率有显著影响(表 3),从省时、节约、降低成本角度考虑, A 因素取  $A_2$ , B 因素取  $B_2$ , C 因素取  $C_2$ , 因此,确定方案  $A_2B_2C_2$  为最佳提取工艺条件,即加 10 倍量水(第 1 次提取加 12 倍量水,浸泡 1 h)提取 2 次,每次 1.5 h。

表 3 有效成分提取量方差分析

误差来源	SS	f	F	P
A	98.47	2	27.49	<0.05
B	2.30	2	0.643	>0.05
C	89.71	2	25.04	<0.05
D(误差)	3.58	2		

### 3 讨论

复方芸归颗粒原方汤剂服用效果良好,且组方中当归、枳壳水煎液具有松弛肠管、促进胃肠蠕动的功能<sup>[5]</sup>,与本颗粒剂的功能主治一致,故确定为水提取工艺。分离有机酸类物质可使用甲醇-水,乙腈-

水等作为流动相,但由于阿魏酸等结构中的酚羟基、羧基在水溶液中容易发生电离,在固定相表面形成双重保留机理,色谱峰拖尾严重,定量分析误差较大,因此常在流动相中加入各种酸。本实验采用 0.1% 磷酸溶液调节流动相 pH 能明显改善色谱峰形,最终确定的流动相是乙腈和 0.1% 磷酸两部分组成,采用梯度洗脱的方式实现各物质的分离。

### [参考文献]

- [1] 马培奇. 便秘治疗药物及其研究进展[J]. 中国医药技术与市场, 2006, 6(2): 33.
- [2] 李冀, 段凤丽. 中国现代百名中医临床家丛书——段富津[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 231.
- [3] 王雪梅, 李应东. 当归有效成分及其药理作用的研究进展[J]. 甘肃中医, 2009, 22(11): 50.
- [4] 马亚兵. 枳壳的胃肠作用及炮制前后的变化[J]. 中药药理与临床, 1996, 12(6): 281.
- [5] 宿树兰. 枳壳的研究进展[J]. 中药材, 2001, 24(3): 222.

[责任编辑 仝燕]