

正交试验法优选目赤消痛颗粒剂水提工艺

王欣欣¹, 黄青², 刘秀华², 郑友兰^{1*}

(1. 吉林农业大学 研究生学院, 长春 130000; 2. 吉林省中医药科学院 长春 130000)

[摘要] 目的: 优选目赤消痛颗粒剂的最佳水提工艺。方法: 采用正交试验设计法, 以黄芩苷的得率为指标, 确定加水量, 煎煮时间, 煎煮次数 3 个提取参数。结果: 确定目赤消痛颗粒剂的最佳水提工艺条件为加 8 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 2 h。结论: 目赤消痛颗粒剂的水提取工艺稳定, 可行。

[关键词] 目赤消痛颗粒剂; 黄芩苷; 提取工艺; 正交试验

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2011) 03-0044-02

目赤消痛颗粒是由黄芩, 龙胆, 地黄等 10 味中药组成, 主要用于治疗热邪犯目所引起的急慢性葡萄膜炎、视网膜, 血管炎、急慢性结膜炎和各类角膜炎等症状^[1]。为方便临床用药和患者携带, 实验对组方成分进行分析, 选择水提取, 对其提取工艺采用正交试验法进行研究, 以确定最佳提取工艺, 使制剂工艺更加合理。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AVP 高效液相色谱仪; SPD-10AVP 紫外检测器; 7725i 手动进样器; 浙大 N2000 色谱工作站; Shimadzu C18 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm); HH-S₂₄ 数显恒温水浴锅 (金坛市天宏实验仪器厂); AB265-S 精密电子天平 (梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司)

黄芩苷 (批号 110715-200212, 中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯, 试验药材均购自吉林大药房, 经吉林省中医药科学院徐国经教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 水煎组正交试验设计 采用正交实验法对黄芩等药材水煎液提取工艺进行优选。根据文献报道^[2], 以 A 加水量, B 提取时间, C 提取次数为试验因素, 每个因素 3 个水平进行优选, 以黄芩苷含量为指标进行试验。因素水平见表 1。

表 1 水提工艺因素水平表 L₉(3⁴)

水平	A 加水量 / 倍	B 提取时间 / h	C 提取次数 / 次
1	10	2.5	3
2	8	2.0	2
3	6	1.5	1

2.2 黄芩苷含量的测定^[3]

2.2.1 色谱条件与系统适应性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2) 为流动相; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 280 nm。此色谱条件下, 理论塔板数按黄芩苷峰计算为 2 820.012。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取在 60 °C 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品 7.40 mg, 加甲醇溶解并稀释至 25 mL 的容量瓶中, 精密吸取 2 mL, 用甲醇稀释至 10 mL 容量瓶中, 制成每 1 mL 含 59.2 μg 的对照品溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 按 L₉(3⁴) 正交表设计及处方量的比例, 分别用不同煎煮时间, 按不同的煎煮次数、不同加水倍数进行提取, 提取液浓缩至适量, 取出 1 mL, 加流动相稀释至 25 mL, 即为供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取黄芩苷对照品溶液 (0.059 2 g·L⁻¹) 3, 6, 9, 10, 15 μL 分别注入高效液相色谱仪, 依法进行测定。以峰面积积分值为纵坐标, 以黄芩苷的进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程为 $Y = 1\ 860\ 588.048X - 209\ 558.074\ 5$, $r = 0.999\ 8$, 结果表明, 黄芩苷进样量在 0.177 6 ~ 0.888 μg 呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取同一份标准品溶液, 按上述

[收稿日期] 2010-05-04

[第一作者] 王欣欣, 硕士, 新药研究与开发, Tel: 13843000325, E-mail: 44067093@qq.com

[通讯作者] * 郑友兰, 教授, 新药研究与开发, Tel: 13756854900, E-mail: 894372932@qq.com

色谱条件重复测定 5 次,计算精密度。结果黄芩苷的色谱峰面积 RSD 0.955% ($n=5$),表明仪器精密性良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一批供试品溶液,分别于 0, 1, 2, 3, 4h 按上述色谱条件进样测定 5 次。结果黄芩苷色谱峰面积 RSD 0.968% ($n=5$)。表明供试品溶液在 4 h 内稳定性较好。

2.2.7 黄芩苷含量测定 分别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,按上述色谱条件进行测定。

2.3 目赤消痛颗粒水提最佳工艺确定 正交试验结果见表 2,方差分析结果见表 3。

表 2 水提工艺正交试验结果

试验号	A	B	C	D	黄芩苷 质量分数/%
1	1	1	1	1	8.805
2	1	2	2	2	5.382
3	1	3	3	3	2.538
4	2	1	2	3	4.290
5	2	2	3	1	4.972
6	2	3	1	2	8.245
7	3	1	3	2	2.599
8	3	2	1	2	6.781
9	3	3	2	1	2.636
	16.725	15.694	28.831	16.413	
	17.507	17.135	12.308	16.226	
	11.724	13.419	10.109	13.317	
R	1.830	1.239	4.574	0.935	

表 3 黄芩苷质量分数方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	5.882	2	3.589	>0.05
B	2.340	2	1.428	>0.05
C	36.212	2	22.101	<0.05
误差 D	1.638	2		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

由表 2 知,3 个因素的级差大小顺序为 $C > A > B$,提取次数对提取工艺的影响最大,加水量影响较大,提取时间影响最小。由表 3 可见因素 C(提取次数)有显著性,因素 A(加水量),B(提取时间)无显著性。故目赤消痛颗粒的最佳水提工艺为 $A_2 B_2 C_1$,即加 8 倍量水,提取 3 次,每次 2 h。

2.4 最佳工艺验证试验 按优选的最佳工艺提取 3 批样品进行验证试验,可知 3 批样品黄芩苷含量分别为 9.873%, 9.063%, 9.523%。验证结果表明此工艺稳定可行。

3 讨论

目赤消痛颗粒为复方制剂,成分复杂。实验选择以黄芩苷含量测定为指标,可评价工艺的合理性。

采用正交试验设计法对目赤消痛颗粒提取工艺进行优化筛选,确定加 8 倍水,提取 3 次,每次 2h 的提取工艺简便,科学,符合生产要求。

[参考文献]

- [1] 李志金,杨存爱.清热明目颗粒的药效学实验研究[J].河北医药,2009,31(14):1835.
- [2] 汤建成,王溶溶,陈丹菲,等.糖足颗粒的制备工艺研究[J].中药新药与临床药理,2009,20(4):384.
- [3] 中国药典.一部[S].2010:282.

[责任编辑 仝燕]