

采用正交试验设计优选参芍盆炎净合剂的提取工艺

张建堂^{1*}, 王 进²

(1. 三门峡市中心医院, 河南 三门峡 472000; 2. 洛阳市洛铜医院, 河南 洛阳 471003)

[摘要] 目的: 优选参芍盆炎净合剂的提取工艺; 方法: 以芍药苷的提取转移率为考察指标, 通过正交试验 $L_9(3^4)$ 对参芍盆炎净合剂的提取工艺进行优选; 结果: 最佳工艺为加 10 倍量水, 提取 3 次, 每次 1 h。

[关键词] 参芍盆炎净合剂; 芍药苷; 正交试验

[中图分类号] R286.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)01-0009-03

参芍盆炎净合剂是由洛阳铜加工厂医院研制而成的医院制剂, 主要由丹参、赤芍等 14 味中药组成, 具有清热祛湿、活血止痛的功效, 适用于湿热蕴结所致的痛经、盆腔炎、附件炎、子宫内膜炎等症。制剂工艺为: 处方药材加水提取, 提取液滤过, 滤液浓缩至相对密度约 1.1 (60 °C), 加乙醇至含醇量 65% (V/V) 沉淀, 取上清液回收乙醇至无醇味, 浸膏加同体积水冷藏 24 h, 滤过, 滤液加辅料配制, 灌装, 灭菌即得。为将其开发成现代中成药, 采用正交试验对其提取进行工艺优选。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪 (Waters 717 plus Autosampler, Waters 600 Controller, Waters 2487 dual λ absorbance detector), Empower 色谱工作站; Waters SunfireTM C₁₈ 色谱柱 (5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm)。

芍药苷对照品 (110736-200527, 中国药品生物制品检定所); 丹参、赤芍等中药材购自亳州药材市

场。甲醇、乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品 11.6 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。

2.2 供试品溶液的制备 取 1/10 处方量药材, 按 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表对药材进行提取, 提取液浓缩、离心后定容至 100 mL, 取 10 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μ m 滤膜滤过, 取续滤液即得。

2.3 色谱条件 色谱柱: Waters SunfireTM C₁₈ 色谱柱 (5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm)。流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (14: 86); 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 检测波长 230 nm^[1]; 柱温 35 °C; 进样量 10 μ L。理论塔板数按芍药苷计不低于 2 000。预实验结果目标峰基线分离, 阴性无干扰, 见图 1~3。

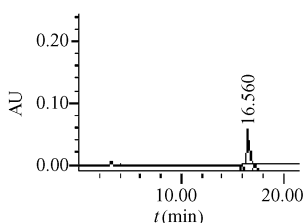


图1 芍药苷

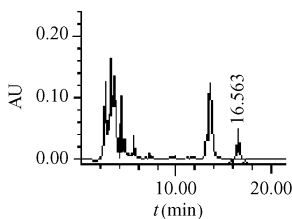


图2 样品

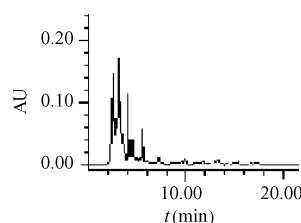


图3 缺赤芍阴性样品

2.4 线性关系考察 精密吸取浓度 0.1 mg \cdot mL⁻¹ 的芍药苷对照品溶液 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀即得。按上

述色谱条件进行测定。以峰面积 Y 对进样量 X (μ g) 进行回归分析, 结果芍药苷在 0.058 ~ 1.16 μ g 范围内呈良好线性关系, 见图 4, 回归方程 $Y = (1.35e + 0.007)X + 3.5e + 0.003$, $r = 0.9999$ 。

2.5 提取工艺研究 根据处方中药物以及文献资料, 选取赤芍中的芍药苷为指标成分, 对影响提取的

[收稿日期] 2009-04-16

[通讯作者] * 张建堂, Tel.: (0398)2664132

主要因素加水量、提取次数、提取时间进行考察。

2.5.1 因素水平表 见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因素		
	A 加水量(倍)	B 提取次数	C 提取时间(h)
1	6	1	1
2	8	2	1.5
3	10	3	2

2.5.2 试验结果 按照色谱条件对按照正交试验 $L_9(3^4)$ 设计处理的各样品进行测定,计算出芍药苷的提取转移率,芍药苷提取转移率 = $\frac{\text{测得样品中芍药苷总含量}}{\text{赤芍中芍药苷含量}} \times 100\%$,结果见表 2。

表 2 正交试验表

试验号	因素				芍药苷提取转移率(%)
	A (加水量)	B (提取次数)	C (煎煮时间)	D (空)	
1	1	1	1	1	50
2	1	2	2	2	57
3	1	3	3	3	58
4	2	1	2	3	56
5	2	2	3	1	65
6	2	3	1	2	66
7	3	1	3	2	60
8	3	2	1	3	65
9	3	3	2	1	69

2.5.3 方差分析 正交试验结果采用 spss13.0 分析,结果见表 3~4。

表 3 方差分析表

来源	离差平方和	自由度	均值	F 值	P 值
校准的模型	0.029(a)	6	0.005	20.524	0.047
截距	3.312	1	3.312	14196.000	0.000
加水量	0.015	2	0.008	32.714	0.030
提取次数	0.013	2	0.007	28.714	0.034
煎煮时间	6.67E-005	2	3.33E-005	0.143	0.875
误差	0.000	2	0.000		
总变异	3.342	9			
校正总变异	0.029	8			

注:a $R^2 = 0.984$ (调整后的 $R^2 = 0.936$)

表 4 单因素统计量表

1. A 因变量:芍药苷提取转移率

加水量	平均值	标准方差	95% 置信区间	
			下限	上限
6 倍	0.550	0.009	0.512	0.588
8 倍	0.623	0.009	0.585	0.661
10 倍	0.647	0.009	0.609	0.685

2. B 因变量:芍药苷提取转移率

提取次数	平均值	标准方差	95% 置信区间	
			下限	上限
1 次	0.553	0.009	0.515	0.591
2 次	0.623	0.009	0.585	0.661
3 次	0.643	0.009	0.605	0.681

3. C 因变量:芍药苷提取转移率

煎煮时间	平均值	标准方差	95% 置信区间	
			下限	上限
1 h	0.553	0.009	0.515	0.591
1.5 h	0.623	0.009	0.585	0.661
2 h	0.643	0.009	0.605	0.681

由方差分析表可知 A、B、C 的显著值分别为 0.030、0.340、0.875,影响的次序依次为 $A > B > C$, A、B 两因素对提取影响较大 ($P < 0.05$), C 因素无统计学意义 ($P > 0.05$)。由表 4 可知最佳提取条件为 $A_3B_3C_3$,因为 C 对结果影响不显著,且考虑实际生产成本故选 C_1 ,因此确定最佳工艺为 $A_3B_3C_1$ 。

2.5.4 验证试验 按 1 倍量处方称取药材共 3 份,分别按照最佳工艺制备相应的样品,测定样品中芍药苷含量,计算出芍药苷的提取转移率为 69%、71%、72%,平均为 70.7%。

3 讨论

参芍盆炎净合剂把赤芍中的芍药苷作为指标成分,是因为赤芍具有清热凉血、化瘀止痛的功效;而芍药苷是其主要有效成分,现代药理研究具有抗炎、镇痛作用。并且芍药苷性质相对比较稳定,用 HPLC 法测定芍药苷的方法比较成熟稳定,所以选取了芍药苷为指标成分。

本实验曾选用过的流动相还有:甲醇:0.05% mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(40: 65)、甲醇:水(28: 72)、乙腈:水(13: 87)。以上方法用于本制剂的含量测定时效果均不理想,采用本实验方法成分分离效果好,结果准确,灵敏度高。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 68.
- [2] 何思煌, 梁燕芬. HPLC 法测定腰痛片中芍药苷含量[J]. 广东药学院学报, 2008(2): 21-22.

- [3] 陶华明, 王隶书, 程东岩, 等. 八珍胶囊中芍药苷的高效液相色谱法测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(10): 20-21.
- [4] 陈新菊, 利家平. 高效液相色谱法测定妇科得生胶囊中芍药苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1426.