

正交试验法优选乳康酊渗漉提取工艺研究

黄建猷^{1*}, 刘智生¹, 黄瑞松², 邓治旭¹, 李 嘉¹

(1. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 2. 广西民族医药研究所, 广西南宁 530001)

[摘要] 目的: 优选乳康酊的最佳渗漉提取工艺条件。方法: 采用正交设计法以丹皮酚含量为考察指标, 对影响乳康酊渗漉提取工艺的因素进行研究。结果: 乳康酊的最佳提取工艺: 药材粉碎度为 15 目, 乙醇浓度为 80%, 浸泡时间为 72 h, 渗漉速度为 2 mL·min⁻¹。结论: 该提取工艺方法可行、工艺稳定、重复性好。

[关键词] 正交试验; 提取工艺; 徐长卿; 丹皮酚;

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)11-0019-02

乳康酊由徐长卿、三棱、广西莪术、半枝莲等中药制成, 具有行气活血、软坚散结、清热解毒、消肿止痛之功效, 用于妇女乳腺增生等症状。方中徐长卿为君药, 具有祛风化湿、止痛止痒的作用^[1]。丹皮酚为徐长卿主要有效成分。本试验以丹皮酚含量为考察指标, 采用正交试验法^[2]对药材粉碎度、乙醇浓度、浸泡时间和渗漉速度等因素进行探讨, 优选出最佳提取工艺条件。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外检测器, 威玛龙色谱工作站。

1.2 药材 徐长卿、三棱、广西莪术、半枝莲、蒲公英、香附、龙血竭、冰片购于南宁市医药有限责任公司; 山慈菇为自己采收。

1.3 药品 丹皮酚对照品(批号: 0708-9704) 购于中国药品生物制品检定所。

1.4 试剂 甲醇为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司), 液相用水为重蒸水(自制), 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平表 以丹皮酚含量为考察指标, 对药材粉碎度、乙醇浓度、浸泡时间和渗漉速度进行考察, 选用 L₉(3⁴) 正交表进行试验, 因素水平表见表 1。

2.2 实验方法 按处方量称取除冰片、血竭以外的各味药材, 按表 2 规定的药材粉碎度、乙醇浓度、浸泡时间和渗漉速度。收集渗漉液, 按处方量称取冰

片、血竭溶于渗漉液中, 定容至 1 000 mL。

表 1 因素水平表

水平	因素			
	药材粉碎度 (目) A	乙醇浓度 (%) B	浸泡时间 (h) C	渗漉速度 (mL·min ⁻¹) D
1	5	70	24	2
2	10	80	48	4
3	15	90	72	6

2.3 丹皮酚含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱: Lichrospher 5-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 江苏汉邦科技有限公司; 流动相: 甲醇-水 (58: 42); 检测波长: 274 nm; 流速: 1 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取丹皮酚对照品 15.01 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密吸取 1 mL 贮备液至 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 即得(每 1 mL 含丹皮酚对照品 15.01 μg)。

2.3.3 供试品溶液的制备 分别精密吸取 2.2 项中制得的渗漉液 1 mL, 共 9 份, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.4 标准曲线的制备 精密吸取丹皮酚对照品贮备液 10 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 1, 3, 5, 7, 9 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为丹皮酚对照液。精密吸取上述溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪, 测定。以丹皮酚对照品的进样量(μg) 为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 绘制标准曲线。其回归方程为: $y = 3\,676\,597.27x - 1\,695.05$, $r = 0.999\,9$,

[收稿日期] 2007-03-26

[通讯作者] * 黄建猷, Tel: (0771) 5893113; E-mail:

dearhuangjianyou@tom.com

回归方程表明,丹皮酚进样量在(0.030 02 ~ 0.270 18) μg 内时与峰面积呈良好线性关系。

2.3.5 精密度的试验 精密吸取丹皮酚对照品溶液(15.01 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 10 μL , 重复进样 6 次, 测定色谱峰面积, 结果精密度良好, $\text{RSD}=1.43\%$ ($n=6$)。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取 2.3.3 项下已制得的 6 号供试品 10 μL 分别在 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样测定。结果表明丹皮酚在 24 h 内稳定性良好, $\text{RSD}=0.71\%$ ($n=6$)。

2.3.7 重复性试验 精密吸取 2.3.3 项下已制得的 6 号供试品 10 μL , 重复 6 次进样, 测定色谱峰面积。结果丹皮酚的平均含量为 0.360 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{RSD}=1.01\%$ ($n=6$)。

2.3.8 回收率试验 分别精密吸取 2.3.3 项下 6 号供试品 0.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入丹皮酚对照品贮备液(150.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 1.2 mL, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。按上述色谱条件进行测定。丹皮酚的平均回收率为 99.03%, $\text{RSD}=1.83\%$ ($n=6$)。

2.3.9 样品的测定 分别精密吸取上述对照品溶液和 9 份供试品溶液各 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积并计算出含量。结果见表 2~ 3。

表 2 正交设计及试验结果

No.	A	B	C	D	丹皮酚含量($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	1	1	1	1	0.516
2	1	2	2	2	0.501
3	1	3	3	3	0.432
4	2	1	2	3	0.521
5	2	2	3	1	0.574
6	2	3	1	2	0.355
7	3	1	3	2	0.500
8	3	2	1	3	0.502
9	3	3	2	1	0.470

丹皮酚含量

K_1	1.449	1.537	1.373	1.560	$\sum y_i = 4.371$	$N = 9$
K_2	1.450	1.577	1.492	1.356	$\text{CT} = (\sum y_i)^2 / N = 2.123$	
K_3	1.472	1.257	1.506	1.455		
R	0.023	0.320	0.133	0.204		

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P
B	0.020 27	2	0.010 14	179.9	< 0.01
C	0.003 561	2	0.001 781	31.6	< 0.05
D	0.006 938	2	0.003 469	61.6	< 0.05
A(误差)	0.000 112 7	2	0.000 056 35		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$; $F_{0.01}(2, 2) = 99$

2.4 结果分析 上述方差结果表明, B 具有极显著性差异, C, D 也具有显著性差异, 从极差的结果可知, 各因素影响大小的顺序为 $B > D > C > A$ 。所以最佳提取工艺为 $A_3 B_2 C_3 D_1$, 即用粉碎度为 15 目的药材, 浓度为 80% 乙醇浸泡 72 h 后以 $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度渗漉。

2.5 验证性试验 考察上述优选提取工艺的可靠性按照上述最佳渗漉提取工艺条件, 我们进行了 3 次验证试验, 测定丹皮酚的含量分别为: 0.580, 0.592, 0.582 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 平均含量为 0.585 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 结果均优于正交试验中任何一组, 说明优选工艺合理、可行。

3 讨论

本试验选取丹皮酚含量优选正交方案的考察指标, 并采用高效液相法对其进行测定, 方法简单、易行, 重现性好, 可用于控制此产品提取工艺的内在质量。为乳康酊渗漉提取工艺提供了试验依据。

[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. 201.
- [2] 张春华, 严云良. 医药数理统计[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 180-212.