

• 制剂工艺

颐神复忆胶囊提取工艺的正交优选

丁家欣, 李树珍, 自卫国, 赵红霞, 宋志前
(中国中医研究院基础理论研究所, 北京 100700)

摘要: 目的: 优选颐神复忆胶囊最佳提取工艺。方法: 以 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(二苯乙烯苷)为指标选择四因素三水平, 用 $L_9(3)^4$ 正交表进行, 确定最佳提取工艺。结果: 最佳工艺为 A2B2C2D3, 即用 60% 浓度乙醇, 相当于生药量的 4 倍, 回流提取 3 次, 即 1.5, 1, 0.5h(回流总时间为 3 h)。结论: 该优选工艺可行, 适于生产。

关键词: 正交优选; 回流提取工艺; 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷; 制何首乌

中图分类号: R283.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)06-0001-02

颐神复忆胶囊是由制何首乌、泽泻等中药经提取加工制成的胶囊, 具有补益肺肾, 健脾化浊, 益智安神之功。主要用于治疗动脉硬化引起的健忘证, 适于治疗老年痴呆症。方中制何首乌的主要有效成分为二苯乙烯苷及蒽醌类成分^[1,2], 均易溶于乙醇, 故采用乙醇回流法提取, 用正交实验优选提取工艺。

1 仪器及材料

HP1100 高效液相色谱仪(包括四元泵、VWD 检测器、HP 化学工作站)。2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(批号 0844-200003), 由中国药品生物制品检定所提供; 制何首乌经鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根的炮制品; 泽泻经鉴定为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎。上述两味药材均由中国中医研究院中药研究所谢宗万研究员鉴定。

2 实验方法

2.1 正交实验设计方案 根据方中制何首乌、泽泻等有效成分结合功能主治, 采用乙醇回流法提取。影响乙醇回流提取效果的主要因素是乙醇浓度、乙醇用量、回流时间和次数, 为寻求最佳回流提取工艺, 以浸膏中二苯乙烯苷的含量为指标, 采用正交实验, 选择上述因素, 每个因素选择三个水平进行平行实验, 用 $L_9(3)^4$ 正交表进行, 见表 1。其结果用方差

分析, 方法如下:

表 1 因素水平表

因素	(A)	(B)	(C)	(D)
水平	乙醇浓度(%)	乙醇用量(倍)	回流时间(h)	回流次数(次)
1	50	3	2	1
2	60	4	3	2
3	70	5	4	3

2.2 二苯乙烯苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Symmetry C_{18} 柱(3.9 × 150mm, 5μm); 流动相为甲醇-水(35:65); 流速: 1mL/min; 检测波长: 317nm; 柱温: 30℃。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取二苯乙烯苷对照品 2.00mg, 配成每 1mL 含 0.2mg 的甲醇溶液, 作为对照品溶液。

2.2.3 流浸膏的制备 按处方比例称取制何首乌, 泽泻等共 9 份, 按正交表顺序制得 9 个样品, 其流浸膏分别定容至 100mL, 混匀, 即得。

2.2.4 样品的制备 分别精密量取上述 1~9 号样品 2mL, 置蒸发皿中, 于水浴上蒸干。残渣加甲醇使溶解, 转移至 25mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 通过微孔滤膜(0.45μm)滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

2.2.5 线性关系考察 取上述对照品溶液, 分别进样 1 2 3 4 5μL, 以对照品浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程为 $Y = 3778.2X + 61.17$, $r = 0.9996$ 。

样品的测定 取供试品溶液 10μL 注入液相色谱仪, 测定, 按回归方程计算即得。结果见表 2 3。

收稿日期: 2005-06-03

通讯作者: 丁家欣, Tel: (010) 64014411-2503, E-mail: dingjiaxin@yahoo.com

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	二苯乙烯苷含量(mg/g)		
					Y_1	Y_2	ΣY
1	1	1	1	1	2.87	2.97	5.84
2	1	2	2	2	9.65	9.70	19.35
3	1	3	3	3	10.30	11.00	21.30
4	2	1	2	3	11.22	11.35	22.57
5	2	2	3	1	7.72	7.75	15.47
6	2	3	1	2	8.67	8.87	17.54
7	3	1	3	2	9.72	9.65	19.37
8	3	2	1	3	10.17	10.45	20.62
9	3	3	2	1	7.22	7.25	14.47
I	46.49	47.78	44.00	35.78	$\Sigma Y = 156.53$		
II	55.58	55.44	56.39	56.29	$CT = (\Sigma Y_i)^2 / 18 = 1361.20$		
III	54.46	53.31	56.14	64.49	$S_{总} = 103.30$		
R	9.09	7.66	12.39	28.71			

表 3 方差分析表

来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	8.19	2	4.09	113.75	$P < 0.01$
B	5.21	2	2.61	72.36	$P < 0.01$
C	16.72	2	8.36	238.86	$P < 0.01$
D	72.86	2	36.43	1011.94	$P < 0.01$
误差	0.32	9	0.036	—	

2.2.6 验证实验 按处方比例称取制何首乌, 泽泻

等共 2 份, 按最佳工艺, 加 60% 乙醇回流 3 次, 分别加乙醇相当生药量 4 4 4 倍, 即 1.5、1.0、0.5h(回流总时间为 3h), 滤过, 分别回收乙醇, 浓缩, 其流浸膏分别定容至 100mL, 混匀, 即得。其余方法同上, 二批二苯乙烯苷含量测定结果分别为: 10.875mg/mL, 10.975mg/mL。

3 结果及讨论

上述方差结果表明, 4 个因素均具有高度显著性差异, 从极差的结果可知, 各因素影响大小顺序为 $D > C > A > B$ 。影响回流工艺的主要因素是回流次数, 其次是回流总时间。所以最佳工艺为 $A_2B_2C_2D_3$, 即用 60% 浓度乙醇, 相当于生药量的 4 4 4 倍, 回流提取 3 次, 回流总时间为 3h(即 1.5、1.0、0.5h)。

按照上述最佳回流提取工艺, 中试三批颐神复忆胶囊, 其二苯乙烯苷含量分别为 1.096、1.028、1.064mg/g, 说明该工艺是稳定、可行的。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册, 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 1135-1138.
- [2] 阴健, 郭力弓. 中药现代研究与临床应用[M]. (1), 北京: 文苑出版社, 1995. 369-374.
- [3] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 139.