

正交试验优选肤洁散剂中大黄、黄芩、五倍子的提取工艺[△]

温悦^{1*},张月²,赖艳¹,孟德胜^{1#}(1.第三军医大学大坪医院野战外科研究所药剂科,重庆 400042;2.蚌埠医学院,安徽蚌埠 233000)

中图分类号 R283;R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0222-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.10

摘要 目的:优选肤洁散剂中大黄、黄芩、五倍子的提取工艺。方法:以干膏率和大黄素质量浓度为评价指标,以浸泡时间、加水量、提取次数和提取时间为考察因素,采用正交试验优选工艺。结果:最佳提取工艺为浸泡15 min,加12倍量水,分3次煎煮,每次煎煮30 min。结论:所选工艺稳定、可行,可用于肤洁散剂中大黄、黄芩、五倍子的提取。

关键词 肤洁散剂;正交试验;大黄素;干膏率

Optimization of the Extraction Technology of *Rheum palmatum*, *Scutellaria baicalensis* and *Galla chinensis* in Fujie Power by Orthogonal Test

WEN Yue¹, ZHANG Yue², LAI Yan¹, MENG De-sheng¹(1.Dept. of Pharmacy, Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing 400042, China; 2.Bengbu Medical College, Anhui Bengbu 233000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of *Rheum palmatum*, *Scutellaria baicalensis* and *Galla chinensis* in Fujie power. METHODS: With extract yield and the content of emodin as indexes, orthogonal test was used to optimize the extraction technology with soaking time, amount of water, extracting time and extracting times as factors. RESULTS: The optimal extraction technology was as follows: soaking for 15 min, adding 12-folds water, decocting 3 times, decocting for 30 min each time. CONCLUSION: The optimum extraction technology is stable and feasible. It is suitable for the extraction of *R. palmatum*, *S. baicalensis* and *G. chinensis* in Fujie power.

KEY WORDS Fujie power; Orthogonal test; Emodin; Yield of dry extract

肤洁散剂是由大黄、黄芩、五倍子、煅石膏和冰片5味药材组成的用于治疗阴囊湿疹的中药复方散剂。根据药材性质,方中大黄、黄芩、五倍子3味中药用水提方法提取有效成分。大黄素为大黄主要代表成分^[1],为了有效控制水提工艺,笔者选取大黄素质量浓度和干膏率为评价指标,采用正交试验优选提取工艺。

1 材料

1200 高效液相色谱(HPLC)仪(美国安捷伦公司);BT 25S 电子分析天平(德国赛多利斯公司);DU-800 紫外分光光度计(美国贝克曼公司);RE-201C 恒温水浴锅、SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);RE5298A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);KQ-50B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz)。

大黄素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110756-200110);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

大黄、五倍子、煅石膏(重庆中药饮片厂,批号分别为110802、080901、1108055);黄芩(四川新荷花中药饮片股份有限公司,批号:1009176);冰片(四川青神康华有限公司,批号:

100101)。

2 方法与结果

2.1 提取工艺设计

根据文献和笔者经验^[2-3],选取加水量(A)、提取次数(B)、提取时间(C)、浸泡时间(D)为考察因素,每个因素选取3个水平,按L₉(3⁴)正交试验表安排试验。因素水平见表1。

表1 因素水平

Tab 1 Factor and level

水平	因素			
	A,倍	B,次	C,h	D,min
1	8	1	1.0	15
2	10	2	1.5	30
3	12	3	0.5	45

2.2 大黄素质量浓度的测定^[4]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Eclipse C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%甲酸(80:20, V/V);柱温:30 ℃;检测波长:254 nm;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品25 mg,置于25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为110 μg/mL的大黄素对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 将正交试验项下得到的提取液抽滤,滤液浓缩至50 ml,置于50 ml量瓶中,作为样品溶液。精密量取此样品溶液20 ml,置于分液漏斗中,加氯仿萃取2次,每次10 ml,合并氯仿液,备用。水层加30 ml氯仿与30 ml 2.5

[△]基金项目:军队中医药科研专项立项课题资助(No.2010Z234);重庆市卫生局中医药科研计划项目资助(No.2010-2-70)

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学、药剂学。电话:023-68757199。E-mail:wmonica@163.com

通信作者:副主任药师。研究方向:药理学。E-mail:mengdes@126.com

mol/L的硫酸溶液,水解回流1.5 h,放冷,移至分液漏斗中,分取氯仿层。水层加氯仿萃取3次,每次20 ml。合并上述氯仿液,用少量无水硫酸钠脱水,滤过,将氯仿液在35℃低温下减压蒸干,残渣加甲醇超声溶解并定容至25 ml,用0.25 μm滤膜滤过,作为供试品溶液,备用。

2.2.4 线性关系考察 吸取大黄素对照品溶液适量,置10 ml量瓶中,用甲醇稀释得8个不同质量浓度的对照品工作溶液(0.86、1.72、3.44、6.88、13.75、27.50、55.00、110.00 μg/ml),按上述色谱条件进样分析。以峰面积积分值(A)为纵坐标,检测浓度(c)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $A=7.552c+4.883$ ($r=0.9999$, $n=8$)。结果表明,大黄素质量浓度在0.86~110.00 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.5 精密度的试验 分别取高、中、低(110.00、6.88、0.86 μg/ml)3个质量浓度的对照品溶液适量,按上述色谱条件于一天之内连续进样5次测定,计算日内精密度;连续3 d分别进样测定,计算日间精密度。结果,日内精密度的RSD<0.85%($n=5$),日间精密度的RSD<1.40%($n=3$),表明仪器精密度良好。

2.3 干膏率测定

精密量取样品溶液1 ml,置于已干燥至恒质量的蒸发皿中,在水浴上蒸干后于105℃干燥3 h,移至干燥器中,放置30 min,迅速精密称定质量,按下式计算干膏率:干膏率=干膏质量/净药材投入质量×100%。

2.4 正交试验方法与结果

按表1安排进行提取,将得到的各提取液滤过,浓缩至适量,放冷,转移至100 ml量瓶中,定容。按“2.2”、“2.3”项下方法分别测定提取液中大黄素质量浓度和干膏率,以此为评价指标,优选提取工艺。正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	干膏率, %	大黄素质量浓度, μg/ml
1	1	1	1	1	13.26	55.73
2	1	2	2	2	10.43	46.05
3	1	3	3	3	18.87	52.12
4	2	1	2	3	14.67	25.93
5	2	2	3	1	21.78	51.74
6	2	3	1	2	31.67	62.95
7	3	1	3	2	18.24	45.67
8	3	2	1	3	24.58	46.84
9	3	3	2	1	37.52	90.51
干膏率	K_1	42.56	46.17	69.51	72.56	
	K_2	68.12	56.79	62.62	60.34	
	K_3	80.34	88.06	58.89	58.12	
	R	4.07	13.96	3.54	4.81	
大黄素质量浓度	K_1	153.89	127.32	165.51	197.98	
	K_2	140.61	144.62	162.48	154.66	
	K_3	183.01	205.57	149.52	124.88	
	R	14.13	26.08	5.33	24.36	

以干膏率为指标,各因素影响大小顺序为B>D>A>C,但各因素对干膏率的影响无显著性差异,最佳工艺为A₃B₃C₁D₁。以大黄素质量浓度为指标,各因素影响大小顺序为

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

指标	方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
干膏率	A	247.77	2	123.89	5.15	>0.05
	B	316.15	2	158.08	6.57	>0.05
	D	40.31	2	20.15	0.84	>0.05
	C(误差)	19.35	2	9.68		
大黄素含量	A	313.52	2	156.76	6.52	>0.05
	B	1126.22	2	563.11	23.42	<0.05
	D	900.66	2	450.33	18.73	>0.05
	C(误差)	48.10	2	24.05		

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$

note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$

B>D>A>C, B因素对工艺有显著性影响($P<0.05$),最佳工艺为A₃B₃C₁D₁。因此,确定最佳工艺为A₃B₃C₁D₁,即浸泡15 min,加12倍量水,煎煮提取3次,每次1 h。但考虑C因素对工艺影响甚小,故为节省工时、降低能耗,选择提取时间为30 min。

2.5 工艺验证试验

取处方量的药材,共3份,按优选的最佳工艺提取,分别滤过,浓缩,定容至100 ml量瓶中,测定提取液中大黄素的质量浓度和干膏率。结果,干膏率和大黄素质量浓度均与正交试验最高值相当,表明优选工艺合理、可行。工艺验证试验结果见表4。

表4 工艺验证试验结果

Tab 4 Results of verification test

试验号	干膏率, %	大黄素质量浓度, μg/ml
1	35.45	88.28
2	36.13	89.34
3	34.79	90.12

3 讨论

本试验优选肤洁散剂中大黄、黄芩和五倍子3味药材的提取工艺,因药物的主要成分均为水溶性,因此采用水提的工艺;而君药大黄的主要有效成分为大黄素,故以干膏率和大黄素质量浓度为评价指标,通过正交试验结合方差分析进行工艺优选,结果影响干膏率和大黄素质量浓度的主要因素均是煎煮次数。为节省工时、降低能耗,确定最佳提取工艺为药材加水浸泡15 min,加12倍量水,煎煮提取3次,每次30 min。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:22.
- [2] 赵明宏, 安晔, 王丹, 等. 正交试验优选地补老年安颗粒中五味子药材的醇提工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(27): 2539.
- [3] 赖岳晓, 刘佩沂, 田素英. 正交试验优选肠腹宁颗粒中白头翁皂苷B₁的提取工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(15): 1374.
- [4] 赖艳, 温悦, 郭莉, 等. 高效液相色谱法测定益精灵口服液中大黄素含量[J]. 医药导报, 2011, 30(9): 1203.

(收稿日期:2012-06-30 修回日期:2012-10-30)