

# 正交试验优化复方胃炎胶囊中药材的水提工艺<sup>Δ</sup>

郑姣妮<sup>1\*</sup>, 刘玲<sup>1#</sup>, 何道惠<sup>2</sup>(1.重庆市急救医疗中心/重庆市第四人民医院药剂科, 重庆 400014; 2.四川省中医药研究院分析测试中心, 成都 610041)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)31-4438-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.31.30

**摘要** 目的:优化复方胃炎胶囊中药材的水提工艺。方法:采用正交试验,以干膏中芍药苷含量、丹酚酸B含量与干膏质量的综合评分为评价指标,考察加水量、煎煮时间和煎煮次数对水提工艺的影响,并进行验证试验。结果:优化的水提工艺为煎煮3次、每次120 min、每次加10倍量水;验证试验中综合评分平均值为909.19(RSD=1.84%, n=3)。结论:优化的水提工艺稳定、可行,可用于复方胃炎胶囊中各药材的提取。

**关键词** 复方胃炎胶囊;正交试验;提取工艺;芍药苷;丹酚酸B

## Optimization of Water Extraction Technology for the Medicinal Materials in Compound Gastritis Capsule by Orthogonal Test

ZHENG Jiaoni<sup>1</sup>, LIU Ling<sup>1</sup>, HE Daohui<sup>2</sup>(1.Dept. of Pharmacy, Chongqing Emergency Medical Center/the Forth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400014, China; 2.Analysis and Test Center, Sichuan Research Institute for TCM, Chengdu 610041, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the water extraction technology for the medicinal materials in Compound gastritis capsule. METHODS: Orthogonal test was adopted. Using the comprehensive score of contents of paeoniflorin, salvianolic acid B and weight of dry extract as evaluation index, effects of adding water amount, decoction time and times on water extraction technology were investigated, and verification test was conducted. RESULTS: Optimized water extraction technology was as follows as decocting for 3 times, 120 min each time and adding 10-fold water each time. In verification test, average comprehensive score was 909.19 (RSD=1.84%, n=3). CONCLUSIONS: Optimized water extraction technology is stable and feasible, and can be used for the water extraction for each medicinal material in Compound gastritis capsule.

**KEYWORDS** Compound gastritis capsule; Orthogonal test; Extraction technology; Paeoniflorin; Salvianolic acid B

慢性胃炎是消化系统常见病、多发病<sup>[1]</sup>,根据病理组织学改变和胃的病变部位,再结合可能病因,一般将胃炎分成非萎缩性(以往称浅表性)、萎缩性和特殊类型3大类<sup>[2]</sup>。胃炎主要是胃黏膜上皮受到各种致病因子,如药物、微生物、毒素和胆汁反流等的经常、反复侵袭所致,其中幽门螺杆菌(HP)是胃炎的最主要病因,可造成慢性持续性的炎症性病变。各类型胃炎虽然病因不同,但病理过程基本相似<sup>[3-4]</sup>。

复方胃炎胶囊的处方来源于临床经验方,该方于2011年1月—2011年12月在重庆市急救医疗中心消化内科进行了前期的临床疗效观察。109例胃炎患者给予复方胃炎胶囊处方的汤剂治疗3个月后,92例治愈(治愈率达84.4%),15例好转,2例无明显疗效,总有效率达到98.2%(观察者为重庆市第四人民医院消化科临床医师曾庆贵、临床药师郑姣妮),提示该方对胃炎患者具有

治疗作用。复方胃炎胶囊处方由白芍、党参、白术、茯苓、麦冬、丹参、香附、高良姜、甘草9味药材组成,由于组成药味较多,服用量大(每次需服用汤剂250 mL,每天需要服用3次),且患者感觉口感不佳,携带也不方便。

为解决上述不足,本课题组拟将该方制剂由汤剂改成胶囊。为制订科学、合理的药材提取工艺,笔者根据处方中各药材的药理作用及有效成分的理化性质,结合中医配伍原则及临床用药特点,以方中君药白芍、丹参的有效成分芍药苷和丹酚酸B<sup>[5]</sup>含量及干膏质量为评价指标,设计正交试验优化复方胃炎胶囊的水提工艺。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

1200 高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司); AUW220D 电子分析天平(日本岛津仪器制造所); RE52CS 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); DA-2A 真空干燥箱(天津泰斯特仪器有限公司); HH-4 数显恒温水浴锅(金坛市双洁实验仪器厂)。

#### 1.2 药材、对照品与试剂

白芍、党参、白术、茯苓、麦冬、丹参、香附、高良姜、甘草(批号分别为:20130309、2013031、20130308、20130401、

<sup>Δ</sup> 基金项目:重庆市卫生局中医药科研计划项目(No.2012-2-31)

\* 主管药师。研究方向:药物治疗学、新药研发。电话:023-63692203。E-mail:zhengjiaoni123@163.com

# 通信作者:主任药师。研究方向:医院药学、新药研发。电话:023-63692203。E-mail:nini842@163.com

20130313、20130420、20130218、20130319、20130311)等9味药材饮片均购自四川省中药饮片公司,经四川省中医药研究院分析测试中心研究员何道惠鉴定为真品;芍药苷对照品(批号:110736-201136)、丹酚酸B对照品(批号:110719-201133)均来源于中国食品药品检定研究院,纯度均不低于98%;乙腈、磷酸为色谱纯,水为蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 干膏中芍药苷、丹酚酸B含量的测定

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Phenomenex C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸盐缓冲溶液,梯度洗脱;检测波长:230 nm(芍药苷)、286 nm(丹酚酸B)<sup>[6-9]</sup>;检测温度:室温;进样量:10 μL。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间, min	乙腈比例, %	磷酸盐缓冲液比例, %
0~10	15	85
10~20	15~33.5	85~66.5
20~25	33.5~15	66.5~85
25~50	15	85

在上述色谱条件下,取“2.1.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液(正交试验9号样品)和阴性对照溶液进样分析。结果丹酚酸B和芍药苷之间以及二者与相邻峰之间的分离度均大于1.5。在阴性对照溶液的色谱图中,在丹酚酸B和芍药苷相对应的位置上未见相应的色谱峰。色谱图见图1。

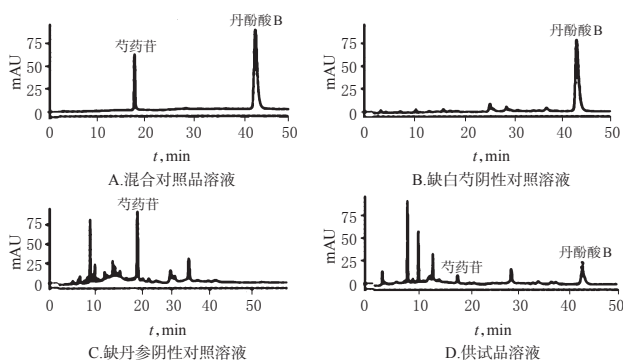


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.1.2 溶液的制备 (1)混合对照品溶液:取芍药苷、丹酚酸B对照品适量,精密称定,加水制备成质量浓度分别为50、55 μg/mL的溶液,即得<sup>[7-9]</sup>。(2)供试品溶液:取“2.2.1”项下水提干膏5 g,精密称定,置于50 mL量瓶中,加水35 mL,超声处理(功率:240 W,频率:45 kHz)15 min<sup>[10]</sup>,放冷,加水至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。(3)缺丹参或白芍的阴性对照溶液:按处方量称取除丹参或白芍之外的其他药材进行提取,按“(2)”项下方法制备,即得。

2.1.3 检测限与定量限 按信噪比为3计算,本法测得

芍药苷、丹酚酸B的检测限分别为0.3、0.4 μg/mL;按信噪比为10计算,本法测得芍药苷、丹酚酸B的定量限分别为1.0、1.2 μg/mL。

2.1.4 标准曲线的制备 精密吸取混合对照品溶液各1、3、5、7、10、15、20 μL进样分析,测定峰面积。以对照品质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得芍药苷、丹酚酸B的回归方程分别为: $y=1\ 415.5x-0.16$ ( $r=0.999\ 0$ )、 $y=1\ 215.2x+1.06$ ( $r=0.998\ 0$ )。结果表明,芍药苷、丹酚酸B检测质量浓度线性范围分别为4.01~81.03、5.14~102.76 μg/mL。

2.1.5 精密度的试验 精密吸取混合对照溶液适量,重复进样测定5次。结果,芍药苷、丹酚酸B峰面积的RSD分别为1.31%、1.23%( $n=5$ ),表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取供试品溶液适量,分别于制备后0、2、4、6、8、24 h时进样测定。结果,芍药苷、丹酚酸B峰面积的RSD分别为1.33%、1.21%( $n=6$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 取同一批干膏(正交试验9号样品)适量,按“2.1.2”项下方法制备成6份供试品溶液,进样测定。结果,芍药苷、丹酚酸B含量的RSD分别为1.00%、1.05%( $n=6$ ),表明方法重复性好。

2.1.8 准确度试验 精密称取已知芍药苷(4.78 mg/g)、丹酚酸B(6.21 mg/g)含量的干膏样品5 g,共9份,精密加入相当于样品中各成分质量分数为80%、100%、120%的芍药苷、丹酚酸B对照品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算芍药苷、丹酚酸B含量及加样回收率。结果,丹酚酸B、芍药苷的平均加样回收率分别为99.78%、99.91%,RSD分别为1.28%、0.51%( $n=9$ ),表明方法准确度较好。

## 2.2 正交试验优化水提工艺

2.2.1 因素、水平与指标的确定 根据前期试验结果,选择煎煮次数(A)、煎煮时间(B)、加水倍数(C)为试验因素<sup>[10-11]</sup>,每个因素选取3个水平;以干膏中芍药苷含量、丹酚酸B含量、干膏质量的综合评分为指标,设计L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验筛选水提工艺条件<sup>[12-14]</sup>。中药有效成分是中药复方发挥治疗作用的物质基础,而干膏质量可影响制剂的稳定性<sup>[15]</sup>。故将干膏中芍药苷含量、丹酚酸B含量的权重系数各设为0.4,干膏质量权重系数设为0.2,计算综合评分[芍药苷含量(mg)×40%+丹酚酸B含量(mg)×40%+干膏质量×20%],其中各成分的含量指53 g生药提取后所得干膏中各成分的含量],因素与水平见表2。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A(煎煮次数)	B(煎煮时间), min	C(加水倍数)
1	1	90	8
2	2	120	10
3	3	150	12

2.2.2 试验设计与结果 按处方比例称取药材 53 g,按表 2 各水平进行煎煮试验,得滤液,滤液浓缩蒸干,70 ℃减压干燥,称质量,得干膏质量;按“2.1”项下方法测定干膏中芍药苷、丹酚酸 B 的含量,计算综合评分。试验设计与结果见表 3,方差分析结果见表 4。

表 3 试验设计与结果

Tab 3 Test design and results

试验号	A	B	C	D(空白)	干膏质量, g	芍药苷含量, mg	丹酚酸 B 含量, mg	综合评分
1	1	90	8	1	12.34	65.12	70.11	56.56
2	1	120	10	2	13.17	66.13	73.53	58.50
3	1	150	12	3	13.69	63.61	81.12	60.63
4	2	90	10	3	15.81	71.55	110.07	75.81
5	2	120	12	1	16.92	71.35	111.33	76.46
6	2	150	8	2	16.86	79.12	112.12	79.87
7	3	90	12	2	18.92	91.51	121.56	89.01
8	3	120	8	3	21.93	91.76	122.48	90.08
9	3	150	10	1	21.81	93.23	123.91	91.22
均值 1	58.563	73.794	75.503	74.745				
均值 2	77.378	75.012	75.175	75.793				
均值 3	90.104	77.239	75.366	75.507				
极差 R	31.541	3.445	0.328	1.048				

表 4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	均方差	F	P
A	1 510.824	2	755.412	857.935	<0.05
B	18.307	2	9.153	10.396	>0.05
C	0.163	2	0.082	0.093	>0.05
D(误差)	1.760	2	0.88		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.000$

Note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.000$

由表 3、表 4 可知,各因素对提取效果的影响大小顺序为 A>B>C,煎煮次数有显著影响。从生产实际及节约成本等出发,确定最优工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即最优方案为煎煮 3 次、每次 120 min、每次加水 10 倍。

### 2.3 工艺验证试验

按处方比例称取各药材共 530 g,平行 3 份,按上述优化条件煎煮提取,滤过,合并滤液,浓缩蒸干,称量;测定芍药苷含量、丹酚酸 B 含量和干膏质量,并计算综合评分。结果,综合评分均值为 909.19(RSD=1.84%),表明优化的工艺稳定、可行。验证试验结果见表 5。

表 5 验证试验结果

Tab 5 Results of verification test

试验号	丹酚酸 B 含量, mg	芍药苷含量, mg	干膏质量, g	综合评分
1	1 221.56	944.43	206.12	907.62
2	1 222.48	945.56	207.61	908.74
3	1 224.91	948.23	209.83	911.22
均值	1 222.98	946.07	207.85	909.19
RSD, %	1.73	1.95	1.86	1.84

## 3 讨论

本处方中白芍和丹参为君药。白芍有效成分主要有芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷等,2015 年版《中国药典》(一部)将芍药苷作为白芍质量控制指标。芍药苷属于单萜苷类,溶于水,具有抗炎、免疫调节、抗病毒

等作用<sup>[14]</sup>。丹参中有效成分主要有酚酸类和脂溶性二萜类,其中酚酸类主要包括丹酚酸 A、B 和丹参素,均为水溶性,其中丹酚酸 B 含量高且检测方法较成熟<sup>[15-16]</sup>,具有抗炎、抗氧化、抗癌等作用<sup>[17]</sup>。芍药苷和丹酚酸 B 两者都有抗炎作用,因此本研究以芍药苷和丹酚酸 B 的含量为主要评价指标。

将本方开发成胶囊剂时,还需进一步对提取后的干膏进行纯化处理,尤其是水溶性成分提取得到的干膏量较大,故应进一步采用醇沉处理等方法以去除水不溶性杂质。另外,本研究在实验室中完成,还需进行中试和大生产验证,并依据生产实际条件进一步优化研究,以满足生产要求。

### 参考文献

- [1] 侯政昆,刘凤斌,李培武.刘凤斌教授治疗慢性萎缩性胃炎的病例系列挖掘分析和经验总结[J].中国中药杂志,2015,40(11):2227-2234.
- [2] 陆再英.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:382-386.
- [3] 陈灏珠.实用内科学[M].14版.北京:高等教育出版社,2013:1976-1980.
- [4] 殷玉静,刘冬梅,王伟.从毒论治慢性萎缩性胃炎中医药现代化研究进展[J].山西中医,2015,31(6):61-62.
- [5] 路珊珊,曾斌芳.慢性萎缩性胃炎中医血瘀证现代进展[J].新疆中医药,2014,32(1):70-71.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:76-77、105.
- [7] 王刚,杜士明,陈黎,等.高效液相色谱法测定活血通淤片中丹参素和丹酚酸 B 含量[J].中国医院药学杂志,2010,30(15):1333-1335.
- [8] 彭俊付,赵宝明,张书信. RP-HPLC 测定广通消中芍药苷含量的方法[J].中国中药杂志,2011,36(23):3268-3270.
- [9] 黄文君,龙凤荣,伍庆,等. RP-HPLC 法同时测定痛经宁胶囊中 4 种有效成分[J].中成药,2012,34(11):2133-2135.
- [10] 张勇,红梅,锡林通嘎拉嘎,等.正交试验优选消疹止痒胶囊药材的提取工艺[J].中国药房,2014,25(43):4067-4068.
- [11] 李柏群,刘骏,陈绍成,等.正交设计优选风芍六君子汤的提取工艺[J].中国药业,2016,25(6):26-29.
- [12] 田润. HPLC 法同时测定妇炎康片中丹酚酸 B、隐丹参酮和芍药苷[J].中成药,2013,35(1):91-94.
- [13] 徐文英,徐晓娜,李莎,等.正交法优化益肾胶囊中的提取工艺[J].中国医院药学杂志,2013,33(19):1588-1590.
- [14] 刘弘,王俊杰.均匀设计法优选通心舒颗粒中药材的提取工艺[J].中国药房,2014,25(11):1015-1016.
- [15] 王聪颖,曹蕾,贺莹莹,等.正交试验优选益炎康栓提取工艺[J].中药与临床,2015,6(2):30-33.
- [16] 周政,刘丽萍,刘海涛,等.正交试验优选薏苡附子败酱散提取工艺[J].中药材,2016,39(4):829-832.
- [17] 王凤霞,袁捷,谢良友,等.多指标正交优选丹参木耳降脂复方提取工艺[J].广东药学院学报,2014,30(5):564-568.

(收稿日期:2017-03-27 修回日期:2017-07-31)

(编辑:刘 萍)