

# 正交试验优选消疹止痒胶囊药材的提取工艺

张勇\*, 红梅#, 锡林通嘎拉嘎, 孟竹, 罗璇(内蒙古自治区人民医院药学处, 呼和浩特 010010)

中图分类号 R284;R94 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)43-4066-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.43.11

**摘要** 目的: 优选消疹止痒胶囊药材的提取工艺。方法: 以阿魏酸含量为考察指标, 乙醇体积分数、乙醇用量、回流时间、回流次数为考察因素, 通过正交试验法对消疹止痒胶囊药材醇提工艺进行优选; 以没食子酸含量为考察指标, 加水量、煎煮时间、煎煮次数、预浸泡时间为考察因素, 通过正交试验法对消疹止痒胶囊药材水提工艺进行优选。结果: 醇提最优工艺为以8倍量90%乙醇提取3次, 每次1.5 h; 水提最优工艺为药材以8倍量水浸泡2 h后提取3次, 每次1 h。结论: 优选的提取工艺中阿魏酸、没食子酸两种有效成分提取效率高, 该工艺操作简便, 稳定可行。

**关键词** 消疹止痒胶囊; 正交试验; 提取工艺; 没食子酸; 阿魏酸

## Optimization of Extraction Technology of Xiaozhen Zhiyang Capsules by Orthogonal Test

ZHANG Yong, HONG Mei, Xilintonggalaga, MENG Zhu, LUO Xuan (Dept. of Pharmacy, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010010, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Xiaozhen zhiyang capsules. METHODS: The ethanol extraction technology of Xiaozhen zhiyang capsules was optimized by orthogonal test with the content of ferulic acid as index using the fraction of ethanol volume, the amount of ethanol, reflux time and reflux times as factors. The water extraction technology of Xiaozhen zhiyang capsules was optimized by orthogonal test with the content of Gallic acid as index using the amount of water, decocting time, decocting times and pre-soaking time as factors. RESULTS: The optimal ethanol extraction technology was as follows: 8-fold 90% ethanol, extracting for 3 times, lasting for 1.5h each time; the optimal water extraction technology was as follows: 8-fold water, soaking for 2h, extracting for 3 times, lasting for 1 h each time. CONCLUSIONS: Using optimal preparation technology, gallic acid and ferulic acid have high extraction efficiency, and the technology is stable and feasible.

**KEYWORDS** Xiaozhen zhiyang capsules; Orthogonal test; Extraction technology; Gallic acid; Ferulic acid

消疹止痒胶囊是在我院名老中医传统方剂的基础上研制而成的纯中药制剂, 广泛用于血虚风热所致的各种皮肤疾病, 尤其对于急、慢性荨麻疹的疗效较好<sup>[1-2]</sup>。该方由川芎、生地、桑白皮、地骨皮、白鲜皮、麻黄、蝉蜕、诃子等中药组成, 具有养血疏风、清热止痒之功效, 原以煎剂应用于临床达40余年, 疗效甚佳, 深受广大患者认可。但是由于剂型的限制, 使用上有诸多不便, 故研制成胶囊。方中川芎有效成分阿魏酸微溶于水, 可溶于热水, 水溶液中稳定性差, 见光易分解, 易溶于乙醇、甲醇、丙酮, 难溶于苯、石油醚<sup>[3-4]</sup>; 诃子中含有大量鞣质, 其主要成分为诃子酸、没食子酸等; 没食子酸易溶于水、乙醇等, 几乎不溶于苯、氯仿与石油醚<sup>[5]</sup>。为发挥其最大临床疗效, 本研究根据药物有效成分的性质和药理作用, 经过多次试验和查阅有关文献<sup>[6-10]</sup>, 确定以阿魏酸、没食子酸的含量为指标, 采用正交试验法对提取工艺进行系统考察, 选出消疹止痒胶囊最优提取工艺。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-10AT VP型高效液相色谱仪, 包括LC-10ATvp泵、

\* 主任药师, 硕士。研究方向: 临床药学。E-mail: zyong69@126.com

# 通信作者: 主任中药师。研究方向: 新药研究。E-mail: kf-c154@aliyun.com

SCL-10Avp型控制器、SPA-10Avp型检测器、CLASS-VP色谱工作站(日本岛津公司); J6MC型高速离心机(美国Beck-Man公司)。

### 1.2 药材

川芎、生地、桑白皮、地骨皮、白鲜皮、麻黄、蝉蜕、诃子均购自内蒙古医药有限责任公司, 经笔者鉴定为真品。

### 1.3 试剂

阿魏酸对照品(批号: 0773-9910)、没食子酸对照品(批号: 0831-9501)均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为高纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 正交试验优选消疹止痒胶囊药材醇提工艺

2.1.1 提取工艺 精密称取样品9份, 每份样品按处方量分别精密称取川芎、桑白皮、地骨皮、麻黄、白鲜皮按L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验表进行乙醇提取, 减压回收乙醇至半稠膏, 加入处方量一半的蝉蜕细粉, 混匀, 干燥, 粉碎至粉末, 备用。取本品0.5 g, 研细, 精密称定, 加20 ml 0.5%碳酸钠溶液, 超声处理30 min, 离心, 取上清置分液漏斗中, 药渣用0.5%碳酸钠溶液洗涤3次, 每次10 ml, 离心, 取上清并入分液漏斗中, 用HCl调pH至1~2, 用25、25、20、20、20 ml乙醚萃取5次, 乙醚液蒸干, 用30%甲醇溶液微热使溶解, 定量转移至10 ml棕色量瓶中, 并用30%甲醇定容, 离心, 取上清, 得消疹止痒胶囊醇溶药材溶液。

2.1.2 含量测定 (1)色谱条件。色谱柱:Phenomen kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6mm, 5μm);流动相:甲醇-1%冰醋酸(30:70, V/V);检测波长: 316 nm;柱温:35 ℃;进样体积:10 μl。理论板数按阿魏酸峰计不得低于3 000。(2)对照品溶液的制备。取阿魏酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml含10 μg的阿魏酸对照品溶液,即得。(3)标准曲线的制备。精密称取阿魏酸对照品2.5 mg,置50 ml棕色量瓶中,加甲醇定容,摇匀,精密吸取1、2、3、4、5、6 ml溶液,分别置10 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀。按“2.1.2(1)”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以峰面积积分值(y)为纵坐标,药物质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=7\ 515\ 745.48x-735.49$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,阿魏酸质量浓度在0.053 8~0.322 8 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.3 正交试验优选提纯工艺 根据文献<sup>[11-12]</sup>及预试验,以阿魏酸含量为评价指标,乙醇的体积分数(A)、乙醇的用量(B)、回流时间(C)、回流次数(D)为考察因素,每个因素选取3个水平,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表进行试验。因素水平见表1;正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平(n=3)

Tab 1 Factors and levels(n=3)

水平	因素			
	A, %	B, 倍	C, h	D, 次
1	60	8	0.5	1
2	75	10	1.0	2
3	90	12	1.5	3

表2 正交试验结果(n=9)

Tab 2 Results of orthogonal test(n=9)

序号	A	B	C	D	阿魏酸含量, mg/ml
1	1	1	1	1	0.467
2	1	2	2	2	0.535
3	1	3	3	3	0.693
4	2	1	2	3	0.667
5	2	2	3	1	0.577
6	2	3	1	2	0.580
7	3	1	3	2	0.788
8	3	2	1	3	0.616
9	3	3	2	1	0.635
K <sub>1</sub>	0.565	0.641	0.554	0.560	
K <sub>2</sub>	0.608	0.576	0.612	0.634	
K <sub>3</sub>	0.680	0.636	0.686	0.659	
R	0.115	0.065	0.132	0.099	

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	2.013E-02	2	1.007E-02	2.580	>0.05
C	2.613E-02	2	1.306E-02	3.348	>0.05
D	1.597E-02	2	7.984E-03	2.046	>0.05
B(误差)	7.804E-03	2	3.902E-03		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

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

由表2、表3中可知,各因素对试验结果影响的大小顺序为:C>A>D>B;由方差分析结果可见,乙醇的体积分数(A)、乙醇的用量(B)、回流时间(C)、回流次数(D)对阿魏酸含量的影响均无统计学意义( $P>0.05$ )。根据试验结果和实际生

产情况,综合各因素,选定最优提取工艺为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即8倍量90%的乙醇提取3次,每次1.5 h。

## 2.2 正交试验优选消疹止痒胶囊药材水提工艺

2.2.1 提取工艺 精密称取样品9份,每份样品按处方量分别精密称取生地、诃子按L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验表进行水提取,减压浓缩至半稠膏,加入处方量一半的蝉蜕细粉,混匀,干燥,粉碎至粉末,备用。取本品0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,摇匀,称定质量,放置过夜,超声处理30 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 ml,水浴蒸干,残渣用流动相溶解,转移至25 ml量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,得消疹止痒胶囊水溶药材溶液。

2.2.2 含量测定 (1)色谱条件。色谱柱:Phenomen kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5μm);流动相:2%甲醇的乙腈溶液-0.1%三乙胺-0.1%磷酸等比混合溶液(3:97, V/V);检测波长:220 nm;柱温:30 ℃;进样体积:20 μl。理论板数按没食子酸峰计算应不低于5 000。(2)对照品溶液的制备。取没食子酸对照品适量,精密称定,加流动相制成每1 ml含15 μg的没食子酸对照品溶液。(3)标准曲线的制备。精密称取没食子酸对照品0.374 mg,置25 ml棕色量瓶中,加流动相定容,摇匀,精密吸取1、2、4、6、8、10 ml溶液,按“2.2.2(1)”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以峰面积积分值(y)为纵坐标,药物质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=21\ 406.2x-120\ 506.5$ ( $r=0.999\ 5$ )。结果表明,没食子酸质量浓度在0.014 96~0.149 6 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.3 正交试验优选水提工艺 根据预试验<sup>[11-12]</sup>,以没食子酸含量为评价指标,加水量(A)、煎煮时间(B)、煎煮次数(C)、浸泡时间(D)为考察因素,每个因素选取3个水平,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表进行试验。因素水平见表4;正交试验结果见表5;方差分析结果见表6。

表4 因素与水平(n=3)

Tab 4 Factors and levels(n=3)

水平	因素			
	A, 倍	B, h	C, 次	D, h
1	8	1.0	1	0
2	10	1.5	2	1
3	12	2.0	3	2

表5 正交试验结果(n=9)

Tab 5 Results of orthogonal test(n=9)

序号	A	B	C	D	没食子酸含量, mg/ml
1	1	1	1	1	1.553
2	1	2	2	2	2.058
3	1	3	3	3	2.859
4	2	1	2	3	2.226
5	2	2	3	1	1.668
6	2	3	1	2	0.780
7	3	1	3	2	1.422
8	3	2	1	3	0.607
9	3	3	2	1	1.194
K <sub>1</sub>	2.157	1.734	0.980	1.472	
K <sub>2</sub>	1.558	1.444	1.826	1.420	
K <sub>3</sub>	1.074	1.611	1.983	1.897	
R	1.083	0.270	1.003	0.477	

表6 方差分析结果

Tab 6 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	1.764	2	0.882	13.939	>0.05
C	1.746	2	0.873	13.801	>0.05
D	0.412	2	0.206	3.254	>0.05
B(误差)	0.127	2	6.327E-02		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 

从表5、表6中可以看出,各因素对试验结果影响的大小顺序为:A>C>D>B;由方差分析结果可见,加水量(A)、煎煮时间(B)、煎煮次数(C)、浸泡时间(D)对没食子酸含量的影响均无统计学意义( $P>0.05$ )。根据试验结果和实际生产情况,综合各因素,选定最优提取工艺为A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即8倍水浸泡2h后煎煮3次,每次1h。

### 2.3 验证试验

按上述优选的最优工艺,制备3批消疹止痒胶囊(批号:20100916、20100917、20100918)样品,对工艺进行验证。依照该制剂质量标准方法进行含量测定<sup>[13]</sup>,测得阿魏酸的含量分别为0.082 0、0.082 2、0.078 3 mg/g, RSD=2.72%;没食子酸的含量分别为2.814 0、2.796 0、2.809 0 mg/g, RSD=0.93%。验证结果表明,优选出的工艺稳定可行。

### 3 讨论

本试验是综合处方中药物有效成分的理化性质和药理作用及生产实践等多方面的因素,经多次试验研究、分析比较而确定分别采用醇提和水提法<sup>[14]</sup>。川芎中主要含有挥发油、川芎嗪、阿魏酸、多糖等,桑白皮主要含有黄酮类衍生物、香豆类衍生物和三萜类化合物;地骨皮含有甜菜碱、 $\beta$ -谷甾醇、亚油酸、桂皮酸及多种酚性物质等;白藜皮、麻黄主要成分均为生物碱类,这些成分在醇中均有一定的溶解性,故采用醇提的方法提取。方中君药川芎因其有效成分川芎嗪易升华,在工艺制备过程中损失较大,成品中转移率较低,测定其含量无实际意义,故选择阿魏酸为指标性成分,运用高效液相色谱法对制剂中川芎的阿魏酸进行含量测定,通过L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计对工艺条件进行优选。

地黄为方中臣药,主要含梓醇等环烯醚萜苷类化合物和多糖,具有清热凉血、滋阴、提高人体免疫力等功效。地黄与诃子中的成分在水中具有一定溶解性,故采用水提法。但是,梓醇化学性质不稳定,易被氧化分解,所以选择以没食子酸

(诃子)的含量为评价指标,对水提取工艺条件进行优选。

根据试验结果及生产实际情况,乙醇提取物中以阿魏酸的含量为评价指标,全面考察了影响乙醇提取效率的因素;以没食子酸含量为评价指标,考察了影响水提工艺主要因素。结果表明,优选出的最佳工艺操作简便、稳定可行,有效成分得到很好的保留。

### 参考文献

- [1] 李凤林. 临证实践[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1980: 106.
- [2] 寇琼, 牛兴东, 马宝林, 等. 消疹止痒胶囊治疗慢性荨麻疹70例疗效观察[J]. 山西中医, 2009, 25(10): 10.
- [3] 金玉清, 洪远林, 李建蕊, 等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2013, 4(3): 44.
- [4] 梁娜, 孙少平, 罗跃娥, 等. 阿魏酸的研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2009(3): 39.
- [5] 柯发敏, 张开莲. 没食子酸的研究进展[J]. 泸州医学院学报, 2011, 25(4): 440.
- [6] 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: 139, 1 173.
- [7] 张秀丽. HPLC法测定川芎中阿魏酸的含量[J]. 中国药事, 2009, 23(5): 469.
- [8] 周琳. 高效液相色谱法测定六味补血颗粒中芍药苷和阿魏酸的含量[J]. 中南药学, 2009, 7(3): 187.
- [9] 才让草. HPLC测定十八味诃子利尿丸中没食子酸含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(11): 49.
- [10] 何春龙, 王焕芸, 莎日娜. 高效液相色谱法测定蒙成药德都红花七味丸中没食子酸的含量[J]. 中南药学, 2013, 11(2): 144.
- [11] 许文英, 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): 1 588.
- [12] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 124.
- [13] 红梅, 王栋, 张勇, 等. 消疹止痒胶囊中有效成分的定性鉴别和含量测定方法研究[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(20): 2 078.
- [14] 常新全. 中药活性成分分析手册: 上册[M]. 北京: 学苑出版社, 2006: 278, 832, 1 133, 1 770, 1 997, 2 312.

(收稿日期: 2014-06-29 修回日期: 2014-08-28)

## 国家中医药管理局副局长于文明出席2014 亚太经合组织“中医药防控空气传播传染病的应用”研讨会开幕式

本刊讯 2014年10月17日,中国中医科学院、中国中医科学院西苑医院主办的“2014 亚太经合组织中医药防控空气传播传染病应用国际研讨会”在北京国际会议中心召开。国家中医药管理局副局长于文明、世界卫生组织驻华代表施贺德出席了大会开幕式并致辞。

于文明在开幕式致辞中指出,为共同应对自然灾害、突发公共卫生事件和社会安全事件等,卫生合作已日益成为亚太经合组织(APEC)的重要领域之一。与此同时,中医药在参与SARS、甲流等新发、重大传染性疾病及慢性病防治等方面的疗效和作用被逐渐揭示。会议的召开有助于总结中医药在重大突发公共卫生事件中取得的成果,为APEC各经济体共同应

对卫生领域的各种困难挑战提供解决思路。建议进一步加强循证医学研究,充分发挥中医药“经济驱动”优势,大力发展中医药健康服务业等。

本次会议旨在APEC经济体内打造高水平的国际学术交流平台,架起临床与基础、防与控、医与药等多学科参与的桥梁,促进科研成果转化,提升APEC经济体应用中医药防控空气媒介传染病的水平,提高公共卫生安全防控能力。王笑频司长、张伯礼院士、吴以岭院士等分别作了主题报告,与会专家学者围绕“健康亚太2020”倡议,就“中医药防控空气传播传染病的应用”有关重大热点问题进行了讨论。