

## 正交试验优化仙慈丹处方药材的提取工艺

鲁芹飞<sup>1</sup>, 朱德全<sup>1</sup>, 黄斌<sup>1</sup>, 黄松<sup>1,2\*</sup>, 赖小平<sup>1,2</sup>

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

2. 东莞广州中医药大学 中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808

**摘要:** 目的 优选仙慈丹处方药材的提取工艺。方法 以干浸膏得率和野黄芩苷的保留率为评价指标, 高效液相色谱法定量, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验对仙慈丹水提取工艺进行优化。结果 仙慈丹的最佳提取工艺为: 水回流提取 3 次, 每次 0.5 h, 溶媒倍量分别为 12、10、10 倍。结论 该提取工艺参数稳定、可行, 适用于仙慈丹处方药材的提取。

**关键词:** 仙慈丹; 野黄芩苷; 提取工艺; 正交试验

中图分类号: R284.2; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)05-0704-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.05.012

## Optimization of extraction process on Xiancidan prescription by orthogonal design

LU Qin-fei<sup>1</sup>, ZHU De-quan<sup>1</sup>, HUANG Bin<sup>1</sup>, HUANG Song<sup>1,2</sup>, LAI Xiao-ping<sup>1,2</sup>

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. Institution for Mathematics and Theoretics Engineering Research, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China

**Abstract: Objective** To optimize the extract process for Xiancidan prescription. **Methods** Dry extract yield and the retention rates of scutellarin were used as indexes, HPLC was used to quantify, and the effects of extraction time, the amount of water, extracting times, and degree on extraction technology were evaluated by  $L_9(3^4)$  orthogonal test. **Results** The optimum technical parameters of the water extracting technology were as follows: circumfluence extracting for 3 times with 12, 10, and 10 times the amount of water, 0.5 h per time. **Conclusion** The preparation procedure is stable and feasible and it can be used for the extraction of Xiancidan prescription.

**Key words:** Xiancidan; scutellarin; extraction process; orthogonal test

仙慈丹为广东省中医院自制的中药复方制剂, 由半枝莲、黄药子、苏木、姜黄、柴胡等 10 余味中药组方制成的丸剂, 主要用于肺癌、胃癌、肝癌等恶性肿瘤的治疗<sup>[1]</sup>。临床实践提示仙慈丹制剂具有良好的抗肿瘤药效。在确保原方疗效与特色的同时, 可以通过工艺优化提高有效成分提取率, 同时减轻不良反应以及减少服用剂量。因此本实验以中医药理论为指导原则, 在不改变原提取溶媒的基础上, 运用现代相关技术进行了仙慈丹提取工艺的研究, 以干浸膏得率和野黄芩苷的保留率为考察指标, 对水提取工艺进行优选<sup>[2-4]</sup>, 确立了仙慈丹合理的提取

工艺。

### 1 仪器与试剂

Shimadzu 高效液相色谱仪 (日本岛津公司), SPD-20A 紫外可见光检测器; N-1000S-WA 旋转蒸发仪 (日本托普仪器有限公司); Sartorius BP110s 万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司); CP225D 十万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司)。

野黄芩苷对照品 (批号 110842-200605, 中国食品药品检定研究院); 处方中所有药材半枝莲、山慈菇、苏木、光菇、蛇舌草、姜黄、莪术、柴胡、鬼臼、三七、黄药子均购自广州杏园春药店, 由广

收稿日期: 2013-03-07

基金项目: 广东省科技计划项目 (2010B030700001)

作者简介: 鲁芹飞 (1987—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事中药新药研究开发。Tel: 13560243312 E-mail: jiayouluqinfei@163.com

\*通信作者 黄松 (1974—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药新药研究开发。Tel: (020)32503212 E-mail: huangnn421@163.com

州中医药大学陈建南教授鉴定为其相应药材的正品；甲醇、乙腈（色谱纯，德国默克公司），其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 野黄芩苷测定方法的建立

**2.1.1 色谱条件** Diamonsil 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：甲醇-乙腈-6%醋酸溶液（28：2：70）；检测波长：335 nm；体积流量：1.0 mL/min。

**2.1.2 对照品溶液制备** 取野黄芩苷对照品约 1.5 mg，精密称定，置 100 mL 量瓶中，加甲醇适量使溶解，并用甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 按处方比例称取方中各药材，按正交试验设计的工艺提取，所得提取液 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得。

**2.1.4 阴性样品溶液的制备** 按处方比例称取不含半枝莲的处方药材，按“供试品溶液的制备”方法制备，即得。

**2.1.5 专属性考察** 分别精密吸取野黄芩苷对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL，按以上色谱条件，注入色谱仪，记录色谱图情况。阴性样品溶液在与野黄芩苷相同保留时间处无色谱峰，表明方中的其他药材对测定结果无干扰。结果见图 1。

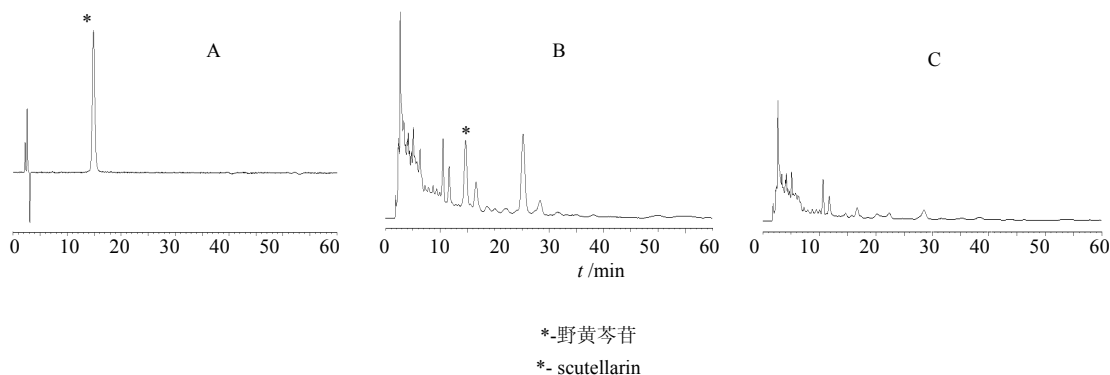


图 1 野黄芩苷对照品 (A)、样品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of scutellarin reference substance (A), sample (B), and negative sample (C)

**2.1.6 标准曲线的绘制** 精密吸取野黄芩苷对照品，分别进样 2.0、5.0、7.0、10、14、17、21、24 μL，注入液相色谱仪，按以上色谱条件测定。以野黄芩苷质量为横坐标，峰面积为纵坐标，建立标准曲线，得回归方程  $Y=1\ 585\ 603.327\ 3\ X-6\ 782.285\ 4$ ， $r=0.999\ 9$ ，结果表明野黄芩苷在 0.032~0.40 μg 线性关系良好。

**2.1.7 精密度试验** 精密吸取 1 份供试品溶液（5 号）10 μL 注入液相色谱仪，记录野黄芩苷的峰面积，连续测定 6 次，结果野黄芩苷峰面积的 RSD 值为 0.79%。

**2.1.8 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液（5 号），分别在 0、6、12、18、24 h 依法测定样品中野黄芩苷的峰面积，计算得 RSD 值为 2.02%。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.1.9 加样回收率试验** 按比例准确称取方中各药材（共 6 份），精密加入野黄芩苷对照品 10 mg，制备供试品溶液。按上述色谱条件进样 10 μL，计算

回收率，结果平均回收率为 98.4%，RSD 值为 1.3%。

**2.1.10 样品测定** 分别精密吸取 1~9 号供试品溶液 10 μL，注入高效液相色谱仪，依上述色谱条件测定野黄芩苷的峰面积值，计算提取率。

提取率 = 提取液中野黄芩苷的质量 / 投药量

## 2.2 干浸膏收率的测定

精密吸取 1~9 号提取液 50 mL，分别置于干燥至恒定质量的蒸发皿中，水浴蒸干，置 105 °C 干燥至恒定质量后于干燥器中冷却 30 min，称定质量，并计算干浸膏收率。

干浸膏收率 = 干浸膏质量 / 投药量

## 2.3 提取工艺的优选

**2.3.1 因素水平的确定** 选择了加水倍量 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 3 个因素来考察水回流提取的工艺，每个因素选择 3 个水平安排正交试验，因素水平见表 1。

**2.3.2 正交试验设计及结果** 以野黄芩苷提取率和干膏得率为指标，采用综合评分法进行数据统计分

表 1 因素水平  
Table 1 Factors and levels

水 平	因素		
	A/倍	B/h	C/次
1	8、6、6	0.5	1
2	10、8、8	1.0	2
3	12、10、10	1.5	3

析（权重指数为 0.8、0.2），按照  $L_9(3^4)$  正交表进行正交试验，结果见表 2。

$$\text{综合得分} = (\text{野黄芩苷提取率/野黄芩苷提取率最大值}) \times 80\% \times 100 + (\text{干膏得率/干膏得率最大值}) \times 20\% \times 100$$

对正交试验结果进行方差分析，结果见表 3。以野黄芩苷提取率和干膏得率为指标，各因素的极差大小可以看出，各因素影响的大小顺序为  $C > A > B$ ；由方差分析表可知 A 因素（加水倍量）和 C 因

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D (空白)	提取率%	出膏率%	综合得分
1	1	1	1	1	18.92	9.46	36.16
2	1	2	2	2	32.52	15.27	61.44
3	1	3	3	3	33.13	25.04	69.17
4	2	1	2	3	38.14	20.16	73.62
5	2	2	3	1	41.09	20.77	78.67
6	2	3	1	2	31.78	16.19	60.93
7	3	1	3	2	51.13	16.43	93.12
8	3	2	1	3	31.90	14.37	59.87
9	3	3	2	1	44.56	22.29	85.14
$K_1$	166.77	202.90	156.95	199.97			
$K_2$	213.23	199.98	220.21	215.49			
$K_3$	238.13	215.24	240.96	202.65			
R	23.79	4.11	28.00	0.89			

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	874.61	2	437.30	19.06	$P < 0.05$
B	43.74	2	21.87	0.95	
C	1276.61	2	638.31	27.82	$P < 0.05$
D (误差)	45.89	2	22.94		

$F_{0.05}(2,8) = 19.00$

素（提取次数）的影响有显著性意义。根据表 2 可知最佳提取方法为  $A_3B_3C_3$ ；B 因素（提取时间）对提取效果无显著性意义，因此考虑在实际生产时，将提取时间缩小为 0.5 h。故确定最佳工艺组合为  $A_3B_1C_3$ 。即分别加 12 倍量、10 倍量、10 倍量的水，提取 3 次，每次 0.5 h。

**2.3.3 验证试验** 按照最佳的提取工艺条件进行试验验证，经 3 次试验依法测得野黄芩苷平均提取率为 47.52%，RSD 值为 2.58%，浸膏得率为 16.47%，

RSD 值为 1.81%。

### 3 讨论

现代药理研究表明野黄芩苷有抗炎、抗肿瘤的作用<sup>[5-6]</sup>，所以在实验中选择了用量最大的半枝莲的有效成分野黄芩苷作为指标成分，而且野黄芩苷在水煎液中含量相对比较高，便于实验过程中的定量检测，从而更加准确地评价工艺的合理性。

在提取工艺方面，为保证原方的疗效与特色，在不改变原有工艺提取溶媒的同时采用正交试验

法,以干浸膏得率和半枝莲中主要成分野黄芩苷的提取率为指标,最终确定仙慈丹的最佳提取工艺参数为:水回流提取3次,每次0.5h,溶媒倍量分别为12、10、10倍量。

#### 参考文献

- [1] 罗明琍,黄松,王杰,等.噻唑蓝法测定抗肿瘤复方制剂仙慈丹的体外抗肿瘤活性[J].中国药学杂志,2010,45(23):1816-1818.
- [2] 中国药典[S].一部.2010:109.
- [3] 杨连梅,刘量,胡荣,等.半枝莲化学成分的提取和含量测定方法研究[J].江苏中医药,2010,42(2):78-79.
- [4] 张文岭,石俊英,靳维荣.黄芩茎叶中野黄芩苷与黄芩苷含量的反相高效液相色谱梯度洗脱法同时测定[J].时珍国医国药,2011,22(11):2669-2671.
- [5] 李守拙,潘海峰.HPLC测定半枝莲中野黄芩苷的含量[J].中草药,2003,34(2):183-184.
- [6] 李守拙,李沈明,范书铎.黄芩茎叶中野黄芩苷含量测定[J].中草药,2000,31(12):910-911.