

正交试验优选十全大补膏的提取工艺研究

杨 勇, 吴 敏, 王 初

(杭州市中医院, 浙江 杭州 310007)

摘 要: 目的 优化十全大补膏的最佳提取工艺。方法 以芍药苷以及浸膏干质量为指标, 采用正交试验法, 加权评分, 优选提取工艺。结果 处方药材的最佳提取工艺为加 8 倍量水, 提取 3 次, 11.5 h/次。结论 此提取工艺合理可行, 为生产十全大补膏提供参考。

关键词: 十全大补膏; 提取工艺; 正交试验; 高效液相色谱

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)01-0071-02

十全大补膏是由党参、白术(炒)、茯苓、炙甘草、当归、川芎、白芍(酒炒)、熟地黄、炙黄芪、肉桂 10 味药组成的, 具有温补气血的功效, 临床上用于气血不足, 饮食减少, 久病体虚, 脚膝无力, 面色萎黄, 精神倦怠, 以及疮疡不敛, 妇女崩漏等^[1]。本处方中芍药苷为其主要活性成分之一, 因此本实验根据中药材的成分性质和现代研究结果, 以芍药苷和浸膏干质量为指标, 采用正交试验法优选提取工艺, 为本制剂的规范化加工提供技术参数。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪; KQ2100 型超声波清洗器(100 W, 50 Hz; 昆山市超声仪器有限公司)。

十全大补膏的处方药材均由浙江中医药大学中药饮片厂提供, 芍药苷(批号: 110730200731)购自中国药品生物制品检验所, 乙腈为色谱纯(Merck), 水为娃哈哈纯净水, 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 芍药苷测定方法的建立

2.1.1 色谱条件^[2]: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm @4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水2乙腈(85 B 15); 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL; 检测波长: 230 nm; 检测器: DAD; 柱温: 30 °C。在该色谱条件下, 芍药苷与其他峰达基线分离, 色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备: 精密称取 11.76 mg 芍药苷对照品, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 备用。

2.1.3 线性关系考察: 精密吸取芍药苷对照品溶液 1、2、4、6、8 μL 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 126.01 X + 151.181$,

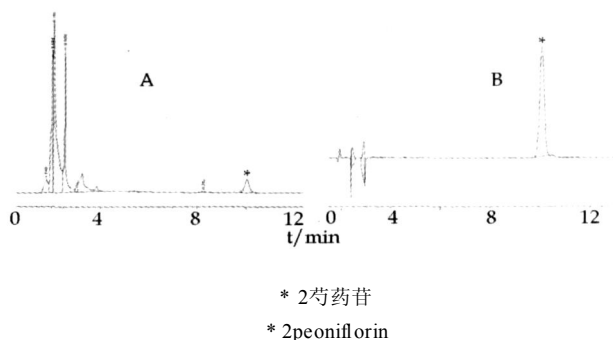


图 1 样品(A)和芍药苷对照品(B)的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of sample (A) and paeoniflorin reference substance (B)

$r = 0.9996$ 。结果表明, 芍药苷在 0.070 4~0.704 μg 呈良好的线性关系。

2.1.4 供试品溶液的制备: 取干浸膏 0.2 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 1 h, 放冷, 用稀乙醇补足减少的质量, 摇匀, 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得。

2.1.5 测定: 照 5 中国药典 2005 年版十全大补丸项下方法测定, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 计算。

2.2 因素与水平的确定: 根据试验结果, 选取影响提取效果的因素和水平, 见表 1。

2.3 正交试验设计: 根据处方中药物的性质及现代

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮次数/次
1	6	1	1
2	8	11.5	2
3	10	2	3

收稿日期: 200903219

作者简介: 杨 勇(1963), 男, 浙江诸暨人, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 杭州市中医院院长, 兼任浙江省医师协会理事, 杭州市中医药协会副理事长, 毕业于浙江大学医学院, 主要从事中西医结合外科研究。Tel: (0571)85827880 E-mail: wchu640@163.com

研究结果,以芍药苷以及浸膏干质量为指标,采用正交试验法优选十全大补膏提取工艺。按处方党参 4 g、白术(炒)4 g、茯苓 4 g、炙甘草 2 g、当归 6 g、川芎 2 g、白芍(酒炒)4 g、熟地黄 6 g、炙黄芪 4 g、肉桂 1 g(共 37 g)称取各药材,按 $L_9(3^4)$ 正交试验条件分别提取,滤过,初步浓缩,转移到干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干至稠浸膏,真空干燥,得到浸膏,储存在干燥器中备用。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白项)	浸膏干质量/g	芍药苷/mg	综合得分
1	1	1	1	1	9.935 2	43.72	57.65
2	1	2	2	2	16.368 7	69.61	92.99
3	1	3	3	3	17.722 8	68.50	95.03
4	2	1	2	3	15.869 5	59.52	83.60
5	2	2	3	1	17.826 5	71.54	97.76
6	2	3	1	2	13.520 0	48.48	69.40
7	3	1	3	2	18.277 6	70.40	97.81
8	3	2	1	3	13.912 7	55.69	76.18
9	3	3	2	1	16.752 4	73.07	96.99
$\bar{N}$	24.51 67	23.91 06	20.31 23	25.21 07			
$\bar{O}$	25.01 76	26.61 93	27.31 25	26.01 20			
$\bar{O}$	27.01 65	26.11 09	29.21 60	25.41 81			
R	2.41 98	2.71 87	8.71 37	8.13			

表 3 方差分析
Table 3 Variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	显著性
A	116.169 0	2	10.185	$P < 0.05$
B	144.018 2	2	12.625	
C	1 426.371 1	2	125.05	
D(误差项)	111.406 3	2		

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

由极差可以看出,在该正交试验设定的因素、水平条件下,对综合评分影响大小的因素进行分析,依次为 $C > B > A$ 。以 D 因素为误差项, C 因素对十全大补膏的提取工艺有显著影响。考虑到便于实际操作的需要,加 8 倍量和 10 倍量水对结果无显著差异,故最佳炮制工艺技术条件为 $A_2B_2C_3$,即加 8 倍量水,提取 3 次,11.5 h/次。

21.6 验证试验:称取处方药材,按上述结果分析中的各条件下提取,测定供试品溶液中芍药苷的质量浓度,同时测定浸膏干质量,结果浸膏干质量为 181.06g,芍药苷的量为 721.17g,总评分为 981.48%。

21.4 浸膏得率的测定:取处方中药材,浸泡 10 h,按照正交试验设计进行回流提取,滤过,浓缩得浸膏。各浸膏样品于 80℃下真空干燥约 48 h 后,称定质量。结果见表 2。

21.5 正交试验结果:以综合得分= (浸膏干质量/最大浸膏干质量) @100 @40%+ (芍药苷的量/最大芍药苷的量) @100 @60% 为指标,进行正交试验优化相关的参数,见表 2、3。

结果表明,验证样品中各指标与正交试验优选结果相近,说明优选的工艺条件稳定可行。

3 讨论

白芍是十全大补膏中的君药之一,其主要成分为芍药苷。鉴于 5 中国药典 2005 年版以芍药苷作为十全大补丸的质控指标,故本实验以芍药苷为指标,同时结合浸膏干质量对十全大补膏的提取工艺进行了研究。

众所周知,膏方是重要的调补养生方法之一。然而目前还没有相对规范的制作工艺。因此,本实验以十全大补膏为例研究其提取的规范及最佳工艺。目前对该处方的研究主要集中在有效成分和药效学方面,对其提取工艺研究较少。本实验优选了十全大补膏的提取工艺,为十全大补膏的最佳生产工艺提供了参考。

参考文献:

[1] 中国药典[S].一部12005
[2] 葛志伟,贺庆,林云径,等1 RP2HPLC 法测定杭白芍及其饮片中药药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷[J]1 中草药,2008,39(12): 3782380