

正交试验优化余甘子配方颗粒的提取工艺研究[△]

魏彩彩*,李雪利,郝磊,冯玉康,张凤林,霍保军,李军山,陈钟(神威药业集团有限公司,石家庄 051430)

中图分类号 R283;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)01-0061-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.01.16

摘要 目的:优化余甘子配方颗粒的提取工艺。方法:以没食子酸含量、出膏率的综合评价结果为指标,以加水倍数、提取次数和提取时间为因素,设计正交试验优化余甘子配方颗粒的提取条件并进行验证试验。结果:余甘子配方颗粒最优提取工艺为饮片加12倍水,提取2次,每次提取1h。验证试验中出膏率平均值为30.44%(RSD=2.07%,n=3)、没食子酸含量平均值为8.12%(RSD=0.86%,n=3)。结论:优化的提取工艺稳定,可为余甘子配方颗粒的标准化、规范化生产提供依据。

关键词 余甘子;配方颗粒;正交试验;提取工艺

Study on Optimization of the Extraction Technology for *Phyllanthus emblica* Formula Granule by Orthogonal Test

WEI Caicai, LI Xueli, HAO Lei, FENG Yukang, ZHANG Fenglin, HUO Baojun, LI Junshan, CHEN Zhong (Shine-way Pharmaceutical Group Ltd., Shijiazhuang 051430, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology for *Phyllanthus emblica* formula granules. METHODS: Using the comprehensive evaluation result of the content of gallic acid and paste rate as index, water amount, extraction times, extracting time as factors, orthogonal test was designed to optimize the extraction conditions of *P. emblica* formula granules. Validation test was conducted. RESULTS: The optimal extraction technology of *P. emblica* formula granule was as follows as 12-fold water, extracting for 2 times, 1 hour each time. The validation results showed that the average paste rate was 30.44% (RSD=2.07%, n=3), and the average content of gallic acid was 8.12% (RSD=0.86%, n=3). CONCLUSIONS: The optimized extraction technology is stable and can provide the basis for standardized production technology of *P. emblica* formula granule.

KEYWORDS *Phyllanthus emblica*; Formula granules; Orthogonal test; Extraction process

余甘子是大戟科植物 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实,是维吾尔医药中一味重要的治疗胃肝病的常用药材,主要产于印度、中国、缅甸、马来西亚、巴基斯坦等地,在我国的广东、云南、江西、广西、福建、贵州、海南等省(区)均有分布^[1-2]。余甘子富含多酚类、多糖、萜类、维生素、蛋白质、氨基酸和生物碱等成分^[3-8],具有清热凉血、消食健胃、生津止渴、保肝解毒之功,用于血热血瘀、消化不良、肠胃炎、腹泻、腹胀、咳嗽、喉痛、肝病、口干等的治疗^[9]。

中药配方颗粒以疗效稳定、携带方便及服用简便等优点备受欢迎^[10]。本课题组拟将余甘子制成配方颗粒,在本试验中采用正交试验法,以没食子酸含量、出膏率的综合评价结果作为主要考察指标,优化余甘子的提取工艺条件,为余甘子配方颗粒的生产提供依据。

1 材料

1.1 仪器

△基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术研究专项课题(No.国中医药科2013ZX07);河北省科技计划项目(No.14272504D)

*助理工程师。研究方向:药物工艺及质量标准。电话:0311-88030066。E-mail:13831119281@163.com

LC 20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司);CPA225D型电子天平[德国赛多利斯(上海)贸易有限公司];DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);HH-S8型电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司)。

1.2 药材、对照品与试剂

余甘子饮片(河北安国中药材市场,批号:151101,经河北省药品检验所孙宝惠主任中药师鉴定为大戟科植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实);没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110831-201204,纯度:89.9%);甲醇、磷酸均为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 提取方法

取余甘子饮片100g,加水浸泡一定时间,加热回流提取一定时间,得提取液。

2.2 出膏率的测定

精密吸取余甘子提取液25mL,置于干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干;于105℃干燥3h后置于干燥器中冷却1h,迅速称质量,计算出膏率 $[(m_1 - m_2) \times V_1 / V_2 \times$

$m \times 100\%$],其中 m_1 为蒸发皿恒质量与干膏质量之和, m_2 为蒸发皿恒质量, m 为药材质量, V_1 为提取液总体积, V_2 为量取的提取液体积。

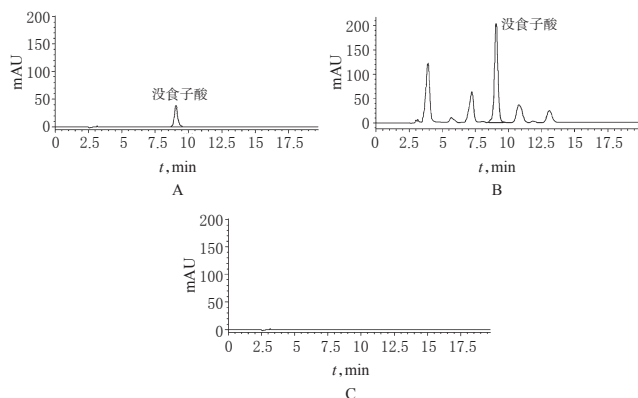
2.3 没食子酸含量测定

2.3.1 色谱条件确定 参考文献[9]确定色谱条件。色谱柱:Gemini C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.2%磷酸溶液(5:95);流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:273 nm;进样体积:10 μL。理论板数按没食子酸峰计应不低于2 000。

2.3.2 对照品溶液制备 取没食子酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.25 mg的溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液制备 精密吸取余甘子提取液1 mL至10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 专属性考察 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液(正交试验9号)及溶剂甲醇各10 μL,注入色谱仪,按上述色谱条件测定,结果其他物质对主成分测定未见干扰。色谱图见图1。



A. 对照品;B.供试品;C.溶剂
A. substance control; B. test sample; C. solvent

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.3.5 线性关系考察 精密称取没食子酸对照品适量,加甲醇溶解并定容至25 mL,得对照品贮备液(0.43 mg/mL);分别精密量取贮备液1、2、4、6、8 mL,用甲醇定容至10 mL,取包括贮备液在内的6个质量浓度的对照品溶液,分别精密吸取10 μL,注入色谱仪测定。以没食子酸质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=3\ 018.0x+22.4(r=0.999\ 9, n=6)$ 。结果表明,没食子酸检测质量浓度线性范围为0.043~0.344 mg/mL。

2.3.6 精密度考察 取“2.3.3”项下供试品溶液10 μL,重复进样测定5次,计算得没食子酸峰面积的RSD为0.24%($n=5$)。

2.3.7 重复性考察 精密吸取同一余甘子提取液1 mL共6份,按“2.3.3”项下操作,进样测定,计算得没食子酸

峰面积的RSD为1.73%($n=6$)。

2.3.8 定量限与检测限考察 将没食子酸对照品溶液逐级稀释成不同质量浓度的溶液进样分析,测得其信噪比为10时的定量限为4.23 μg/mL,信噪比为3时的检测限为1.27 μg/mL。

2.3.9 稳定性考察 精密吸取同一余甘子提取液1 mL,按“2.3.3”项下操作,分别于放置0、1、8、24、48、72 h后进样10 μL,计算得没食子酸峰面积的RSD为0.49%($n=6$),表明供试品溶液在72 h内稳定。

2.3.10 回收率考察 精密量取已知含量的余甘子提取液1 mL,分别加入没食子酸对照品溶液2 mL,混匀,定容至10 mL,平行操作6份。分别进样10 μL测定,结果平均回收率为100.04%(RSD=0.57%, $n=6$),表明该方法准确度良好。

2.3.11 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液10 μL,注入色谱仪测定,计算没食子酸的含量。

2.4 正交试验优化提取工艺

根据预试验结果,确定饮片浸泡时间为0.5 h;另选择可影响提取效果的加水倍数(A)、提取次数(B)和提取时间(C)为考察因素,以出膏率(W)和没食子酸的含量(c)为考察指标(二者组成的综合评价指标计算公式为 $W/W_{\max} \times 40\% + c/c_{\max} \times 60\%$),采用L₉(3⁴)正交表进行试验设计。因素与水平见表1,试验设计与结果见表2,方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A,倍	B,次	C,h
1	8(8,8)	1	0.5(0.5,0.5)
2	10(10,10)	2	1(1,1)
3	12(12,12)	3	1.5(1.5,1.5)

注:括号中所述加水倍数和提取时间分别为第2次、第3次的加水倍数和提取时间

Note: water amount and extracting time in brackets mean water amount for second time and extracting time for third time

由表3可以看出,提取次数对综合评价结果有显著影响,对出膏率影响不显著,而加水倍数和提取时间对各项指标影响均不显著。提取次数是该提取工艺的重要影响因素,根据直观分析得出提取2次最合适;另再结合直观分析和成本选择A₃C₂。故优化后工艺为A₃B₂C₂,即加入12倍水量提取2次,每次提取1 h。

2.5 验证试验

按照优化后的提取工艺,分别取500 g余甘子饮片进行3次试验,结果出膏率平均值为30.44%(RSD=2.07%, $n=3$)、没食子酸含量平均值为8.12%(RSD=0.86%, $n=3$),表明优化工艺稳定、重现性好。

3 讨论

表2 试验设计与结果

Tab 2 Design and results of test

指标	实验号	因素				出膏率, %	没食子酸含 量,mg/mL	综合 评价
		A	B	C	D(空白)			
	1	1	1	1	1	23.06	4.40	0.63
	2	1	2	2	2	28.62	7.47	0.93
	3	1	3	3	3	27.34	6.02	0.81
	4	2	1	2	3	24.98	4.61	0.67
	5	2	2	3	1	26.91	7.86	0.94
	6	2	3	1	2	26.65	5.44	0.76
	7	3	1	3	2	24.05	4.39	0.64
	8	3	2	1	3	29.15	8.05	0.98
	9	3	3	2	1	30.23	8.11	1.00
出膏率	K ₁	26.340	24.030	26.287	26.733			
	K ₂	26.180	28.227	27.943	26.440			
	K ₃	27.810	28.073	26.100	27.157			
	R	1.630	4.197	1.843	0.717			
没食子酸含量	K ₁	5.963	4.467	5.963	6.790			
	K ₂	5.970	7.793	6.730	5.767			
	K ₃	6.850	6.523	6.090	6.227			
	R	0.887	3.326	0.767	1.023			
综合评价	K ₁	0.790	0.647	0.790	0.857			
	K ₂	0.790	0.950	0.867	0.777			
	K ₃	0.873	0.857	0.797	0.820			
	R	0.083	0.303	0.077	0.080			

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

误差来源	离均差平方和	自由度	均方差	F比	F临界值	P
A	0.014	2	0.007 0	0.311	3.110	
B	0.145	2	0.072 5	3.222	3.110	<0.1
C	0.011	2	0.005 5	0.244	3.110	
误差	0.180	8	0.022 5			

没食子酸为余甘子主要活性成分之一,其含量为2015年版《中国药典》(一部)中余甘子药材的评价指标之一^[9],故本试验以没食子酸含量作为质量控制指标优选提取工艺的依据合理。

由正交试验所得提取工艺经验证试验表明,该方法稳定、重现性较好,故该工艺可为余甘子配方颗粒标准化、规范化生产工艺提供依据。

目前关于余甘子提取工艺的研究多为针对多糖类、多酚类等某一类成分的提取工艺的研究^[11-13],暂无关于余甘子配方颗粒提取工艺的研究报道。中药配方颗粒是由单味中药饮片经水提、浓缩、干燥、制粒而成的免煎煮、直接冲服的纯中药制剂,其是对传统中药饮片的补充,并可通过中药现代化实现标准化生产^[14]。余甘子配方颗粒提取液中含有多糖、没食子酸、多酚类等多种成

分,本次工艺优选研究主要以出膏率和特征成分没食子酸含量为指标进行优化,暂时未设计能阐明提取条件变化对余甘子提取液其他成分影响的相关试验。故本课题组下一步将继续开展针对余甘子配方颗粒与标准煎剂相应指标的对比研究。

参考文献

- [1] 徐国钧,何宏贤,徐璐珊,等.中国药材学[M].北京:中国医药科技出版社,1996:1105-1106.
- [2] 杨顺楷,杨亚力,杨维力.余甘子资源植物的研究与开发进展[J].应用与环境生物学报,2008,14(6):846-854.
- [3] 邓才彬,谢庆娟,曲中堂.余甘子化学成分研究[J].中国药房,2009,20(27):2120-2121.
- [4] 茹克娅,胡加阿不都拉,帕提古力,等.余甘子的维吾尔医应用及研究进展[J].中国民族医药杂志,2011,12(12):61-63.
- [5] 王辉.余甘子的化学成分和药理作用研究进展[J].中国现代中药,2011,13(11):52-56.
- [6] 许嵘,郭幼红,黄清茹.余甘子研究概况[J].海峡药学,2012,24(1):45-46.
- [7] 刘延泽,李海霞,许利嘉,等.药食兼用余甘子的现代研究概述及应用前景分析[J].中草药,2013,44(12):1700-1706.
- [8] 李兵,黄贵庆,卢汝梅,等.余甘子化学成分研究[J].中药材,2015,38(2):290-293.
- [9] 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,2015:179.
- [10] 李芹.浅析中药配方颗粒的优越性[J].医学信息,2015,28(38):282.
- [11] 赵谋明,刘晓丽,崔春,等.余甘子多酚响应面法优化提取及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2007,28(6):117-119.
- [12] 张云坤,包永睿,孟宪生,等.藏药余甘子抗肿瘤活性成分的提取工艺优化和含量测定[J].中国医药工业杂志,2012,43(11):905-908.
- [13] 曹维,朱建梅,文洁,等.余甘子有效成分提取工艺研究[J].中药材,2013,36(5):812-815.
- [14] 马良珠.中药配方颗粒的研究进展[J].中国医药指南,2013,11(18):81-82.

(收稿日期:2016-04-15 修回日期:2016-06-08)

(编辑:刘萍)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅