

# 多指标加权评分法优选润肤止痒脂质体凝胶提取工艺

罗懿<sup>1</sup>, 欧阳荣<sup>2\*</sup>, 李珊<sup>2</sup>, 任卫琼<sup>2</sup>, 万艳群<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007)

**[摘要]** 目的: 优选润肤止痒脂质体凝胶的提取工艺条件。方法: 以苦参碱、羟基红花黄色素 A 含量及浸膏得率为综合评价指标, 在单因素试验基础上, 采用正交试验法考察浸泡时间、提取时间、加水倍数对提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺为加 12, 10 倍量水浸泡 0.5 h, 分别提取 2.0, 1.5 h。结论: 优选的工艺稳定可行, 为润肤止痒脂质体凝胶的进一步开发提供实验依据。

**[关键词]** 提取工艺; 正交试验; 苦参碱; 羟基红花黄色素 A; 浸膏得率

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0017-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013080017

## Optimization of Extraction Technology of Runfu Zhiyang Liposome Gels by Multiple Index Weighted Scoring Method

LUO Yi<sup>1</sup>, OUYANG Rong<sup>2\*</sup>, LI Shan<sup>2</sup>, REN Wei-qiong<sup>2</sup>, WAN Yan-qun<sup>1</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China;  
2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction conditions of Runfu Zhiyang liposome gels. **Method:** With the content of hydroxy safflower yellow A and matrine, extract yield as comprehensive evaluation index, based on single factor test, effects of soaking time, extraction time and the amount of water on technology was investigated by orthogonal test. **Result:** Optimum extraction technology was as following: extracted 2, 1.5 h with 12, 10 times the amount of water after soaking 0.5 h, respectively. **Conclusion:** This optimized technology was stable and feasible, it offered experimental basis for further development of Runfu Zhiyang liposome gels.

**[Key words]** extraction technology; orthogonal test; matrine; hydroxy safflower yellow A; extract yield

润肤止痒方为湖南中医药大学第一附属医院刘丽芳教授临床经验方, 由当归、生地、红花、苦参等药物组成, 具有补血合营、养阴润燥、凉血止血等功效, 主要用于治疗血虚风燥型皮肤瘙痒症。其中苦参中苦参碱具有镇痛、抗炎、抗菌杀虫等作用<sup>[1]</sup>, 红花中红花黄色素 A 能抗血小板聚集、抗血栓形成、镇痛及抗炎<sup>[2]</sup>。原方为乳剂, 容易分层, 润滑作用较差。

改为脂质体凝胶剂可提高药物在皮肤部位的有效浓度, 并达到缓释的效果。本实验以苦参碱、羟基红花黄色素 A 含量及浸膏得率的综合评分为指标分别考察醇提法及水提法, 采用单因素试验考察醇提方法、醇提次数、乙醇体积分数、加醇倍数、醇提时间对提取工艺的影响, 选取加醇倍数、乙醇体积分数、提取时间为考察因素, 通过  $L_9(3^4)$  正交试验优选醇提工艺, 发现醇提法中各组结果之间无显著性差异, 而水提法通过条件优化得出的综合评分比醇提法高。故本文拟将水提法工艺优选进行系统报道, 为润肤止痒脂质体凝胶的进一步开发奠定基础。

### 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), ES-J120 型电子分析天平(湖南光明电源), 苦参碱、

**[收稿日期]** 20121108(023)

**[基金项目]** 长沙市科技局基金项目(K1106002-31)

**[第一作者]** 罗懿, 在读硕士, 从事新药研究与开发, Tel: 13787141640, E-mail: 1648708856@qq.com

**[通讯作者]** \* 欧阳荣, 主任药师, 硕士生导师, 从事药品质量控制研究, Tel: 0731-85600544, E-mail: ouyang2121219@163.com

羟基红花黄色素 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别 111637-201101,110870-200902),中药饮片(均购自湖南三湘中药饮片公司,经湖南中医药大学第一附属医院药剂科药检室周新蓓副主任药师检验,均符合 2010 年版《中国药典》一部规定),甲醇、乙腈为色谱纯,水为二次蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 羟基红花黄色素 A 和苦参碱的含量测定<sup>[3-8]</sup>

#### 2.1.1 色谱条件

**2.1.1.1 羟基红花黄色素 A** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-乙腈-0.7% 磷酸盐溶液(26:2:72),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 403 nm,柱温 25 ℃。

**2.1.1.2 苦参碱** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-甲醇-磷酸盐缓冲液(pH 6.8)(16:16:68),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 220 nm,柱温 30 ℃。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 依次精密称取苦参碱、羟基红花黄色素 A 对照品 7.4, 8.0 mg, 分别置 50 mL 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 称取 1/10 处方量饮片,分别加 8, 6 倍量水浸泡 0.5 h, 依次提取 1.0, 0.5 h, 合并提取液,定容至 400 mL, 过滤, 收集续滤液, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 即得。

**2.1.4 标准曲线的绘制** 精密吸取羟基红花黄色素 A 对照品溶液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL, 用流动相定容至 10 mL, 依次进样 20 μL, 以峰面积为纵坐标, 对照品质量浓度为横坐标, 得回归方程  $Y = 9\ 276X + 0.080\ 7 (r = 0.999\ 9)$ , 表明羟基红花黄色素 A 在 0.148 ~ 1.48 μg 呈良好线性关系。同法操作, 得苦参碱回归方程  $Y = 13\ 547X - 6.727\ 6 (r = 0.999\ 1)$ , 表明苦参碱在 0.32 ~ 3.2 μg 呈良好线性关系。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次。结果按峰面积计算, 苦参碱、羟基红花黄色素 A 的 RSD 分别为 1.88%, 0.53%。表明仪器精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液适量, 置室温条件下, 密闭保存, 分别于 0, 1, 2, 4, 12, 24 h 各进样 10 μL, 测定, 结果苦参碱、羟基红花黄色素 A 峰面积的 RSD 分别为 2.30%, 1.85%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.1.7 重复性试验** 取同一批样品适量, 共 6 份,

按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 进行含量测定。结果苦参碱、羟基红花黄色素 A 的平均质量分数分别为 0.045%, 0.083%; RSD 分别为 1.56%, 2.09%, 表明该方法重复性较好。

**2.1.8 加样回收率试验** 精密称取已测定含量的样品适量, 共 6 份, 采用加样回收法, 分别加入一定量羟基红花黄色素 A (5.920 mg) 和苦参碱对照品 (9.600 mg), 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 进行含量测定, 计算加样回收率, 结果见表 1 ~ 2。

表 1 羟基红花黄色素 A 加样回收率试验

称样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
11.340 1	5.078	10.913	98.60	100.29	1.94
11.350 4	5.072	10.882	98.10		
11.340 9	5.076	10.934	99.01		
11.360 0	5.088	11.167	102.71		
11.350 9	5.085	11.090	101.40		
11.290 7	5.081	11.113	101.91		

表 2 苦参碱加样回收率试验

称样量 /g	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
11.340 1	9.358	19.102	101.50	100.81	1.59
11.350 4	9.357	19.150	102.01		
11.340 9	9.351	19.222	102.82		
11.360 0	9.349	18.834	98.80		
11.350 9	9.352	19.012	100.62		
11.290 7	9.353	18.868	99.11		

**2.1.9 样品测定** 按 2010 年版《中国药典》一部红花、苦参项下羟基红花黄色素 A、苦参碱的含量测定方法测定, 结果苦参碱、羟基红花黄色素 A 质量分数(以干燥品计)分别为 1.62%, 2.10%。

**2.2 单因素试验考察** 以苦参碱、羟基红花黄色素 A 含量的综合评分为考察指标, 综合评分 = (羟基红花黄色素 A 含量/羟基红花黄色素 A 最大含量) × 100 × 0.5 + (苦参碱含量/苦参碱最大含量) × 100 × 0.5。

**2.2.1 提取次数** 称取 1/10 处方量饮片 6 份, 分为 3 组, 分别提取 1, 2, 3 次, 第 1 次加 8 倍量水提取 2.0 h, 第 2, 3 次分别加 6 倍量水提取 1.5 h, 对提取次数进行考察。结果提取 1, 2, 3 次的综合评分分别为 76.1, 90.2, 91.0, 综合考虑选择提取 2 次。

**2.2.2 提取时间** 称取 1/10 处方量饮片 10 份, 分为 5 组, 各加 10 倍量水浸泡 1.0 h, 分别提取 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 h, 倒出提取液, 再加 8 倍量水相

应提取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 h, 合并提取液, 抽滤, 定容至 300 mL, 对提取时间进行考察。结果综合评分依次为 86.0, 90.1, 89.4, 88.5, 83.0, 表明提取 1.5, 1.0 h 效果最好。

**2.2.3 加水量** 称取 1/10 处方量饮片 10 份, 分为 5 组, 分别加入 14, 12, 10, 8, 6 倍量水浸泡 30 min, 提取 1.5 h, 倒出药液, 第 2 次分别加入 12, 10, 8, 6, 4 倍量水提取 1.0 h, 合并药液, 过滤, 滤液定容至 500 mL, 对加水量进行考察。结果综合评分依次为 90.5, 90.8, 89.5, 85.1, 71.8, 表明加 12, 10 倍量水效果最好, 但与加 14, 12 倍量水相比, 指标成分提取效果相差不大。

**2.2.4 浸泡时间** 称取 1/10 处方量饮片 10 份, 分为 5 组, 第 1 次加 10 倍量水分别浸泡 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 h, 提取 1.5 h, 第 2 次加 8 倍量水提取 1.0 h, 合并提取液, 抽滤, 定容至 400 mL, 对浸泡时间进行考察。结果综合评分依次为 89.9, 90.3, 89.2, 89.7, 88.4。

**2.3 正交试验优选** 在预试验基础上, 称取处方量药材约 40 g, 以浸膏得率、苦参碱及羟基红花黄色素 A 含量的综合评分为考察指标, 对浸泡时间、煎煮时间、加水量进行考察, 每个因素选择 3 个水平, 按  $L_9(3^4)$  正交设计进行试验。因素水平见表 3, 试验安排及结果见表 4, 方差分析见表 5。

表 3 润肤止痒脂质体凝胶的水提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量 /倍	B 浸泡 时间/h	C 煎煮 时间/h
1	8, 6	0.5	1.0, 0.5
2	10, 8	1.0	1.5, 1.0
3	12, 10	1.5	2.0, 1.5

由直观分析可知, 各因素对提取工艺的影响排序为  $A > C > B$ , 最佳工艺条件为  $A_3B_1C_3$ ; 方差分析表明 A 因素对提取工艺具有极显著影响, C 因素具有显著影响, B 因素则无显著影响; 选择最佳提取工艺为加 12, 10 倍量水浸泡 30 min, 分别提取 2.0, 1.5 h。

### 3 讨论

考察了乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液 (80:10:10)、乙腈-甲醇-磷酸盐缓冲液 (pH 6.8) (16:16:68)、乙腈-无水乙醇-1% 磷酸水溶液 ((80:10:10) 等流动相, 从分离情况和峰形等综合分析, 以乙腈-甲醇-磷酸盐缓冲液 (pH 6.8) (16:16:68) 分离效果较为理想。优选的提取工艺以水为提取溶剂, 成本低, 便于工业化生产, 且通过验证试验表明优选工艺条件简便易行、稳定可靠。但由于中药有效成份复

表 4 润肤止痒脂质体凝胶的水提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	红花 黄色素 /mg·g <sup>-1</sup>	苦参碱 /mg·g <sup>-1</sup>	浸膏 得率 /%	综合 评分
1	1	1	1	1	1.186	1.517	12.90	76.0
2	1	2	2	2	1.001	1.731	12.45	73.6
3	1	3	3	3	1.069	2.036	13.83	82.4
4	2	1	2	3	1.208	1.854	13.80	83.4
5	2	2	3	1	1.069	2.187	14.31	85.4
6	2	3	1	2	1.192	1.832	13.16	81.9
7	3	1	3	2	1.220	2.316	15.09	93.1
8	3	2	1	3	1.246	1.870	18.86	90.2
9	3	3	2	1	1.314	1.900	15.35	89.1
$K_1$	232	252.5	248.1	250.5				
$K_2$	250.7	249.2	246.1	248.6				
$K_3$	272.4	253.4	260.9	256				
R	40.4	4.2	14.8	7.4				

注: 综合评分 = (羟基红花黄色素 A 含量/羟基红花黄色素 A 最大含量) × 100 × 0.4 + (苦参碱含量/苦参碱最大含量) × 100 × 0.4 + (浸膏得率/最大浸膏得率) × 100 × 0.2。

表 5 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	708.902	2	354.451	583.928	<0.01
B	17.567	2	8.784	14.470	>0.05
C	61.953	2	30.977	51.031	<0.05
D(误差)	1.214	2	0.607		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19, F_{0.01}(2, 2) = 99$ 。

杂, 因此该制剂的提取工艺对于相关药效成分的影响还有待于进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 雷湘, 巩晓宇, 王巍, 等. 纯化苦参碱的提取工艺研究及质量标准的建立[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(4): 6.
- [2] 杨艳红, 戴富华, 方文骥. 红花黄色素提取工艺的研究[J]. 河南化工, 2007, 12(8): 4.
- [3] 杨人泽, 钟美兴, 严金玲. 正交试验法优选安神颗粒的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 41.
- [4] 张武标, 沈阳, 王小洁. 正交实验优选复方逍遥合剂的水提取工艺[J]. 儿科药学杂志, 2010, 16(6): 40.
- [5] 王桂红, 肖伊, 胡俊杰, 等. 理气消痰片水提取工艺研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1): 23.
- [6] 易廷述, 蔡光先. 复方红景天颗粒提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 54.
- [7] 黄斌, 黄松, 王杰, 等. 复方四黄栓提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 23.
- [8] 冯果, 刘文, 张永萍, 等. 结合药效学指标正交优选复方止呕颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 32.

[责任编辑 仝燕]