

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.01.012

复方佛手口服液澄清工艺改进及含量测定*

张春燕¹, 范玲¹, 谢星星², 朱泽兵³, 何世新³, 杜彪^{4△}

(1. 西南医科大学附属医院药物临床机构, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院药学部, 四川 泸州 646000; 3. 重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404000; 4. 重庆三峡中心医院药学部, 重庆 404000)

摘要:目的 建立复方佛手口服液的提取工艺和澄清工艺, 优化含量测定和薄层鉴别方法, 测定佛手橙皮苷和郁金姜黄素的含量。方法 采用单因素考察结合响应面法优化提取工艺, 比较水提醇沉法和 ZTC1 + 1 III 型天然澄清剂技术的澄清效果, 采用薄层色谱法和高效液相色谱法对橙皮苷及姜黄素进行定性鉴别和含量测定。结果 最优提取条件结合实际确定, 浸泡时间 34 min, 提取时间 30 min, 加水倍数 9 倍; 正交试验筛选出的 ZTC1 + 1 澄清技术最佳工艺条件, 澄清剂用量组分 B/A 为 4% : 2%, 加入澄清剂时的温度为 60 ℃, 静止时间为 6 h; 薄层色谱中能检出橙皮苷和姜黄素, 其专属性强, 斑点清晰; 橙皮苷、姜黄素含量在 0.017 ~ 0.975 μg 和 0.049 72 ~ 0.099 44 μg 范围内与峰面积线性关系良好。结论 该法可对复方佛手口服液提取工艺、澄清工艺进行优化, 并可有效鉴别橙皮苷和姜黄素并测定其含量。

关键词: 复方佛手口服液; 澄清工艺; 提取工艺; 优化; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)01-0039-06

Improvement of the Clarification Process and Content Determination of Compound Bergamot Oral Solution

ZHANG Chunyan¹, FAN Ling¹, XIE Xingxing², ZHU Zebing³, HE Shixin³, DU Biao⁴

(1. Drug Clinical Trial Institution, The Hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, China 646000; 2. Department of Pharmacy, The Hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, China 646000; 3. Wanzhou Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 404000; 4. Department of Pharmacy, Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing, China 404000)

Abstract: **Objective** To establish the extraction process and clarification process of Compound Bergamot Oral Solution, and to optimize its content determination and TLC identification method for the content of hesperidin and curcumin in bergamot. **Methods** The extraction process was optimized using single factor study combined with response surface methodology. The clarification effect of water extraction and alcohol precipitation method and ZTC1 + 1 III natural clarifying agent was compared. Identification by TLC and content determination by HPLC were conducted. **Results** The optimal extraction conditions considering the actual conditions was determined; soaking time was 34 min, the extraction time was 30 min, and the water addition ratio was 9 times. The optimal process conditions for the ZTC1 + 1 clarification technique screened by orthogonal test were as follows: the ratio of clarifier dosage component B/A was 4% : 2%, the clarification agent was added at a temperature of 60 ℃, and the rest time was 6 h. Hesperidin and curcumin can be detected in TLC with strong specificity and clear spots. The hesperidin content was linear in the range of 0.017 ~ 0.975 μg, and the curcumin content was linear in the range of 0.049 72 ~ 0.099 44 μg. **Conclusion** This method can optimize the extraction and clarification process, and can effectively identify and determine the content of hesperidin and curcumin in Compound Bergamot Oral Solution.

Key words: Compound Bergamot Oral Solution; clarification process; extraction process; optimization; content determination

目前临床使用的抗抑郁药主要为三环类抗抑郁药物、选择性 5-HT 再摄取抑制剂、单胺氧化酶抑制剂、选择性 NE/5-HT 再摄取抑制剂等^[1], 这些药物普遍存在起效时间长、复发率高、临床治愈率低且残留症状突出等共性问题。近年来, 中药治疗抑郁症试验研究取得了较大进展, 主要有柴胡、白芍、枳壳、淫羊藿、石菖蒲等单味中草药, 以及常用的中药复方, 如逍遥散、开心散、小柴胡汤、四逆散等^[2-3]。抗抑郁中药从以“单胺类神经递质学说”为基础发展到“海马神经障碍学说”, 靶标逐渐关注神经可塑性、神经发生、下丘脑-垂体-肾上腺

轴、免疫系统等方面, 中药抗抑郁药物治疗的安全、有效、潜伏期缩短和个体化治疗将成为抗抑郁药研究新的方向^[4]。复方佛手口服液(曾用名安康口服液)是由重庆三峡中心医院多位名老中医从数百种中草药中筛选出的以佛手为主药组方的抗抑郁新制剂。本研究在已有试验基础上对复方佛手口服液的澄清工艺进行改进优化, 并提高其质量标准。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

XL-10B 型密封式粉碎机(广州市旭朗机械设备有限公司)

*基金项目: 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项[cstc2017shmsA130105]。

第一作者: 张春燕, 女, 硕士研究生, 初级药师, 研究方向为循证药学, (电子信箱)kaixinbaobeizcy@163.com。

△通信作者: 杜彪, 男, 硕士研究生导师, 主任药师, 研究方向为循证药学, (电子信箱)dubiao1967@aliyun.com。

限公司);DL-1型万用电炉(北京中兴伟业仪器有限公司);SDLA-B-1101型实验室超纯水机(重庆圣德利医疗器械研究有限公司);SHZ-DⅢ型循环水真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);XMTD型电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司);XP204型电子天平(梅特勒-托利多公司);SB2200型超声波清洗器(上海必能信超声有限公司);LC-20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司);CS101-2型电热干燥箱(中国重庆银河试验仪器有限公司)。

1.2 试药

佛手饮片(天圣制药集团重庆有限公司,重庆);郁金饮片(重庆国中医药有限公司,广西、四川);北柴胡饮片(重庆慧远药业有限公司,陕西);桑椹饮片(重庆国中医药有限公司,四川);大枣饮片(重庆天圣药业有限公司,河南);炒酸枣仁饮片(重庆国中医药有限公司,河北);甘草饮片(重庆慧远药业有限公司,内蒙古),药材均经重庆市万州区药检所副主任药师张华鉴定为正品。橙皮苷对照品(批号为110721-201316),姜黄素对照品(批号为110823-201706),均由中国食品药品检定研究院提供;乙腈、甲醇均为色谱纯,水为新鲜制备的高纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取工艺单因素试验

根据文献[5]确定了浸泡时间、提取时间、提取次数、加水量为影响因素,确立为单因素考察因素,测定干膏得率、橙皮苷含量,考察其影响因素。初步确定各因素的水平,并进行响应面分析,确定了最优提取条件,浸泡时间34 min,提取时间30 min,加水倍数9倍。

2.2 样品制备

按处方量的药材比例(佛手100 g,郁金90 g,柴胡、桑椹、大枣各45 g,酸枣仁50 g,甘草25 g)称取复方中药材,共100 g,将佛手、柴胡、桑椹、大枣、酸枣仁、甘草置圆底烧瓶中,按单因素提取工艺单因素试验所得最优试验条件,加入水煎煮药材,保持微沸至规定时间后停止加热,过滤水提取液,收集、合并滤液。郁金用10倍甲醇超声提取1 h,放冷2 h,将滤液低温浓缩至一定量。合并总滤液,加蒸馏水定容至1 000 mL,作为浓缩液,备用(复方佛手口服液)。

2.3 澄清工艺优化

2.3.1 澄清剂加入次序确定

通过测定,复方佛手口服液的pH为4.998。按澄清剂说明书,加样顺序取决于处理溶液的pH环境,通常蛋白质的等电点为pH=4.8,中草药水提取液大多数为中性,相对于蛋白质的等电点为碱性环境。澄清剂加入次序的一般原则是,在碱性环境中,按先加入B组分后加入

A组分顺序添加;酸性环境中则相反。本复方佛手口服液澄清剂加入顺序确定为先加入B组分后加入A组分。

2.3.2 评价指标

通过公式计算干膏得率、橙皮苷保留率。固形物去除率(%)=(澄清前固形物质量-澄清后固形物质量)×100%/澄清前固形物质量,橙皮苷保留率(%)=澄清剂处理后药液橙皮苷的含量×100%/处理前药液中橙皮苷的含量。橙皮苷保留率、固形物去除率按归一化法测得评价指标OD值,作为综合评分。采用Hassan法分别对各指标进行数学转换, $d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ 。对橙皮苷保留率、固形物去除率进行数学转换,求得归一值OD值^[6], $OD = (d_1 \times d_2 \times d_3 \cdots d_n)^{1/n}$ 。

2.3.3 吸附澄清剂选择

在已有研究基础上^[7],对复方佛手口服液澄清工艺进行优化,发现天然澄清剂远优于中草药的水提醇沉法。本研究采用新一代纯天然澄清剂ZTC1+1Ⅲ型天然澄清剂。天然澄清剂采用“1+1”澄清技术,澄清效率高,安全无毒,价格低廉,生产周期短,使传统中草药的水提醇沉工艺得到了简化^[8]。

2.3.4 澄清剂溶液制备

按说明书和文献[9-10]配置。A组分溶液:取1.0515 g A组分细粉,精密称定,先用少量去离子水(蒸馏水)搅拌成糊状,加入需要量的去离子水定容至100 mL,室温下放置,溶胀24 h后,搅拌均匀,用双层纱布过滤,即得1%的粘胶液,备用。B组分溶液:取1.0031 g B组分细粉,精密称定,先用少量去离子水溶解,再用浓度为0.5% (0.25%~0.5%)的醋酸溶液1 mL辅助溶解B组分,加入去离子水定容至100 mL,溶胀24 h后,搅拌均匀,用双层纱布过滤,得1%的粘胶液,备用。

2.3.5 工艺优化

澄清工艺Ⅰ:考察水提醇沉法的澄清效果。取浓缩液10 mL,置50 mL洁净锥形瓶中,平行操作3份(编号1~3),分别加入95%乙醇17,19,28 mL,使3个样品的含醇量分别为60%,65%,70%。静置约28 h,用双层纱布过滤,在水浴锅上挥干溶剂测得干膏得率,再按质量标准研究项下制备方法准备样品,并测定橙皮苷含量。详见表1。

表1 水提醇沉法的澄清结果

序号	含醇量(%)	固形物去除率(%)	橙皮苷保留率(%)	OD值	OD平均值
1-1	60	0.3837	0.4708	0.0000	
1-2	65	0.2916	0.4919	0.0201	0.3277
1-3	70	0.3772	0.4968	0.9631	

澄清工艺Ⅱ:采用正交试验法 $L_9(3^4)$ 考察天然澄清剂的澄清效果。考察因素包括澄清剂用量B/A(因素A)、B加入澄清剂时的温度(因素B)、静置时间(因素C)对天然澄清剂澄清效果的影响。计算固形物去除率、橙皮

苷保留率,以综合评分指标 OD 值作为复方佛手口服液澄清度效果的终点指标。水提天然澄清剂法因素水平见表2,正交试验设计及结果见表3,方差分析结果见表4。最佳澄清工艺:由表3可见,影响因素对 OD 值影响由大到小的顺序为 $B > C > A$,加入澄清剂时的温度对 OD 值影响最大。筛选出的最佳澄清工艺条件为 $A_1B_2C_2$,即澄清剂用量 B/A 为 $4\%:2\%$,加入澄清剂时的温度为 60°C ,静置时间为 6 h 。

表2 正交试验法因素水平表

水平	因素 A (%)	因素 B ($^\circ\text{C}$)	因素 C (h)
1	4:2	25	2
2	8:4	60	4
3	12:6	80	6

表3 水提天然澄清剂法正交试验设计及结果

序号	因素			固形物去除率 (%)	橙皮苷保留率 (%)	OD 值	OD 平均值
	A	B	C				
1	1	1	1	0.1650	0.5854	0.4497	
2	1	2	2	0.2825	0.4703	0.5882	
3	1	3	3	0.1361	0.7055	0.4127	
4	2	1	2	0.1946	0.6013	0.5375	
5	2	2	3	0.2177	0.4621	0.4743	0.3902
6	2	3	1	0.3840	0.2116	0.0000	
7	3	1	3	0.2144	0.5996	0.5829	
8	3	2	1	0.1738	0.5745	0.4668	
9	3	3	2	0.0852	0.6124	0.0000	
OD 值 K_1 1.4506 1.7086 1.0550							
K_2 1.0118 1.3908 0.9872							
K_3 1.0497 0.4127 1.4699							
k_1 0.4835 0.5695 0.3517							
k_2 0.3373 0.4636 0.3291							
k_3 0.3499 0.1376 0.4900							
R 0.1463 0.4320 0.1609							

表4 澄清工艺方差分析结果

方差来源	Ⅲ类平方和	自由度	均方	F 值	P 值
修正模型	0.387 ^a	6	0.065	4.260	0.202
截距	1.372	1	1.372	90.509	0.011
因素 B	0.303	2	0.152	9.992	0.091 [*]
因素 C	0.045	2	0.023	1.493	0.401
因素 A	0.039	2	0.020	1.294	0.436
误差	0.030	2	0.015		
总计	1.790	9			
修正后总计	0.418	8			

注:^{*} $P < 0.1$,具有统计学意义。

工艺 I 与工艺 II 澄清效果比较:将复方佛手口服液进行澄清后,依次测定干膏得率和橙皮苷含量,计算固形物去除率和橙皮苷保留率。乙醇沉淀工艺和 ZTC1 + 1 澄清技术得到的 OD 平均值分别为 0.3277 和

0.3902。可见,ZTC1 + 1 澄清技术优于乙醇沉淀工艺。

2.4 薄层色谱鉴别

2.4.1 佛手

量取样品 10 mL,置清洁干燥的蒸发皿中,置水浴锅上浓缩蒸干,残渣加无水乙醇 0.5 mL,超声溶解,作为供试品溶液。另取佛手对照药材 0.5 g,加无水乙醇 10 mL,超声处理 30 min 后,滤过,滤液浓缩至干,残渣加 0.5 mL 无水乙醇溶解,作为对照药材溶液。取不含佛手的阴性样品溶液 10 mL,移入水浴锅上浓缩,挥干溶剂,残渣加 0.5 mL 无水乙醇溶解,可超声辅助溶解,作为阴性对照品溶液。另取橙皮苷对照品少量,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。

按薄层色谱法[2015年版《中国药典(一部)》通则 0502]试验,用毛细管吸取上述 4 种溶液各 1 μL ,分别点于同一以 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, $V/V/V$)为展开剂,展开约 4 cm,取出,晾干,再以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1, $V/V/V/V$)的上层溶液为展开剂,展开约 12 cm,取出,晾干,喷以 1% 三氯化铝试液(精密称取三氯化铝 1.0 g,无水乙醇定容至 100 mL),置紫外灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液、对照药材溶液色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰(图 1 A)。

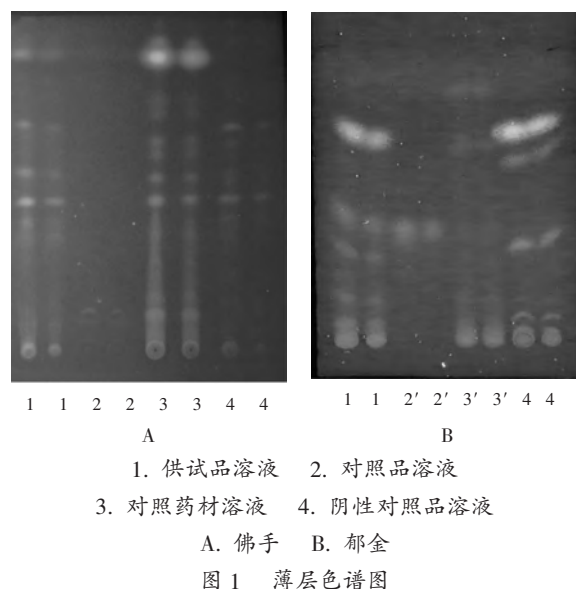


图1 薄层色谱图

2.4.2 郁金

量取复方佛手口服液 10 mL,置清洁干燥的蒸发皿中,置水浴锅上浓缩蒸干,残渣加无水乙醇 0.5 mL,超声溶解,作为供试品溶液。另取郁金对照药材 2.0 g,加无水乙醇 20 mL,超声处理 30 min 后,滤过,滤液浓缩至干,残渣加 0.5 mL 无水乙醇溶解,作为对照药材溶液。取不含郁金的阴性样品溶液 10 mL,移入水浴锅上浓

缩,挥干溶剂,残渣加0.5 mL无水乙醇溶解,可超声辅助溶解,作为阴性对照品溶液。另取姜黄素对照品少量,加入无水乙醇制成质量浓度为20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,作为对照品溶液。

按薄层色谱法[2015年版《中国药典(一部)》通则0502]试验,用毛细管吸取上述4种溶液各2 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-甲酸(96:4:0.7, V/V/V)为展开剂,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液、对照药材溶液色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰(图1 B)。

2.5 君药佛手中橙皮苷含量测定

2.5.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶 Diamasil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-1.5%冰醋酸溶液(17:83, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:284 nm;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μL ;检测波长:284 nm。理论板数按橙皮苷峰计不低于4 000。在此色谱条件下,样品中提取所得橙皮苷保留时间约为27 min。色谱图见图2。

2.5.2 溶液制备

称取橙皮苷对照品0.102 4 g,精密称定,置50 mL清洁容量瓶中(质量浓度为195 $\mu\text{g}/\text{mL}$),加入甲醇适量使其溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品贮备液;将其稀释10倍,精密量取对照品贮备液5 mL,置50 mL容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得对照品溶液(19.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。量取样品浓缩药液10 mL,置干净清洁蒸发皿中,于水浴锅上浓缩至干,静置,冷却至室温,加入甲醇20 mL,超声处理40 min,放冷至室温,滤过,残渣用10 mL甲醇分别洗涤3次,合并滤液,置水浴锅上浓缩至2 mL,放冷,转移至10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。分别按处方比例及制剂工艺制备不含佛手的阴性样品,按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.5.3 方法学考察

阴性干扰试验:比较阴性对照品溶液(不含佛手)、供试品溶液与橙皮苷对照品溶液的色谱图,在橙皮苷出

峰时间相应处阴性样品溶液无峰出现,分离较好,表明其他组分对橙皮苷含量测定无干扰(见图2)。

线性关系考察:精密吸取对照品溶液(97.587 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)50, 100, 200, 400, 600, 800, 1 000 μL ,分别加甲醇950, 900, 800, 600, 400, 200, 0 μL ,配成质量浓度分别为1.714 5, 6.961 4, 15.157 1, 33.677 4, 54.727 9, 79.767 9, 97.587 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液,按拟订色谱条件测定,以橙皮苷含量为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 18\,132.53X$, $R^2 = 1$ ($n = 7$)。结果表明,橙皮苷含量在0.017~0.975 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取对照品溶液10 μL ,连续进样6次。结果橙皮苷峰面积分别为304 074, 306 836, 299 270, 297 745, 299 864, 307 560, $RSD = 1.38\%$ ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

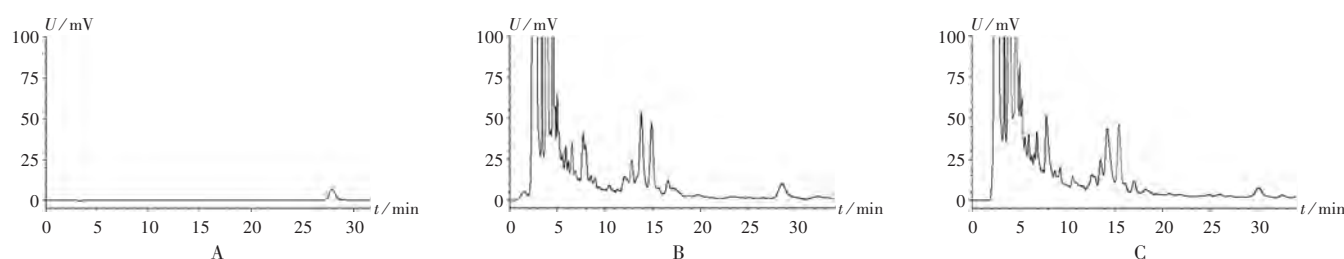
稳定性试验:取同一供试品溶液,精密吸取10 μL ,分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h时按拟订色谱条件测定。结果橙皮苷峰面积的 $RSD = 1.76\%$ ($n = 6$),表明供试品溶液在24 h内稳定。

重复性试验:取同一样品,依法制备供试品溶液,平行制备6份,测定含量。结果的 $RSD = 2.2\%$ ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密称取处方量药材,加入已知含量的同一供试品溶液(16 $\mu\text{g}/\text{mL}$),平行取样6份,分别精密加入对照品溶液(195.174 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)2.5, 5, 10 mL,依法测定含量。结果平均回收率为96.15%, $RSD = 1.61\%$ ($n = 6$)。

2.5.4 样品含量测定

采用外标法,分别配制对照品溶液和供试品溶液,精密量取10 μL ,注入高效液相色谱仪,测定待测成分的峰面积或峰高,按公式 $C_x = A_x \times C_R / A_R$ 计算含量,其中 C_x 为供试品溶液质量浓度, C_R 为对照品溶液质量浓度, A_x 为供试品溶液峰面积, A_R 为对照品溶液峰面积。结果对照品峰面积为302 558,质量浓度为16.686 $\mu\text{g}/\text{mL}$;样品峰面积为297 245,含量为16.420 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。



1. 橙皮苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 橙皮苷测定高效液相色谱图

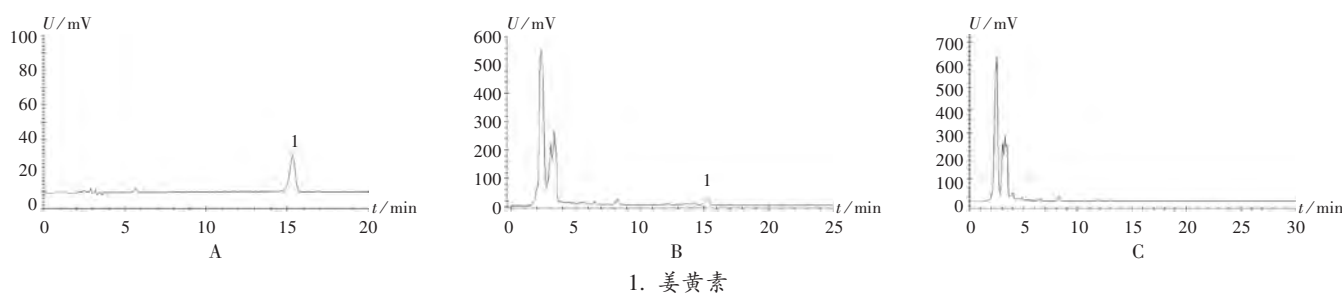


图3 姜黄素测定高效液相色谱图

2.6 臣药郁金中姜黄素含量测定

2.6.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶 Diamosil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相:乙腈-1.5% 冰醋酸溶液 (48:52, V/V); 流速:1.0 mL/min; 检测波长:360 nm; 柱温:35℃; 进样量:10 μL; 检测波长:360 nm。理论板数按橙皮苷峰计不低于4 000。在此色谱条件下,复方佛手口服液样品中提取所得的橙皮苷保留时间大约为15 min。色谱图见图3。

2.6.2 溶液制备

称取姜黄素对照品4.0033 g,精密称定,置10 mL 清洁容量瓶中(质量浓度为398 μg/mL),加入甲醇适量使其溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品贮备液;将其稀释40倍,即得每1 mL含橙皮苷9.944 μg的对照品溶液。量取浓缩药液10 mL,置干净清洁的蒸发皿中,于水浴锅上浓缩至干,静置冷却至室温,加入甲醇20 mL,超声处理40 min,放冷至室温,滤过,残渣用10 mL 甲醇分别洗涤3次,合并滤液,置水浴锅上浓缩至2 mL,放冷,转移至10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。分别按处方比例及制剂工艺制备不含郁金的阴性样品,按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.6.3 方法学考察

阴性干扰试验:比较阴性对照品溶液(不含郁金)、供试品溶液与姜黄素对照品溶液色谱图,在姜黄素出峰时间处阴性样品溶液无峰出现,分离较好,说明其他组分对橙皮苷含量测定无干扰(见图3)。

线性关系考察:将对照品溶液(397.76 μg/mL)配成质量浓度分别为99.44, 79.552, 39.776, 19.888, 9.944, 4.972 μg/mL的标准溶液,按拟订色谱条件测定含量,以姜黄素含量(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 60\,558X - 61\,683$, $R^2 = 0.9996$ ($n = 6$)。结果表明,姜黄素含量在0.04972~0.09944 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:分别精密吸取对照品溶液10 μL,连续进样5次。结果峰面积分别为598 693.3, 665 138.3, 598 609.1, 593 094.1, 634 847.8, $RSD = 4.58\%$ ($n = 5$),

表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液,精密量取10 μL,分别于0, 2, 4, 8 h时按拟订色谱条件测定。结果的 $RSD = 3.55\%$ ($n = 4$),表明供试品溶液在8 h内稳定。

重复性试验:取同一样品,依法制备供试品溶液,平行4份,测定含量。结果的 $RSD = 3.14\%$ ($n = 4$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密称取处方量的药材,平行6份,依法制备供试品溶液(10 μg/mL),分别精密加入姜黄素对照品溶液(质量浓度分别约为15.4, 15.4, 16.6, 16.6, 16.7, 16.7 μg/mL,依法测定其含量。结果平均回收率为85.35%, RSD 为3.48% ($n = 6$)。

2.6.4 样品含量测定

方法同2.5.4项,采用外标法。结果对照品峰面积为618 077,质量浓度为11.2249 μg/mL,样品峰面积为598 609.1,含量为10.9035 μg/mL。

3 讨论

3.1 提取工艺考察及优化

单因素试验无法反映出多个因素之间相互作用的结果,可能对结果造成较大不良影响。因此,本研究中结合单因素考察结果,采用中心组合设计-响应面试验法对提取次数、浸泡时间、提取时间、加水量几个因素进行进一步考察,综合分析结果确定提取工艺的最优条件并进行验证。研究拟采用星点设计-响应面法优化提取工艺,因提取次数为非连续型变量,故按照单因素考察结果和试验的实际情况,固定为提取3次。以干膏得率、橙皮苷含量(μg/mL)为响应指标,进一步考察浸泡时间、提取时间、加水量因素对提取工艺的影响。最优提取条件确定,浸泡时间34 min,提取时间30 min,加水倍数9倍。

3.2 澄清工艺改进

比较工艺I水提醇沉法与工艺II水提天然澄清剂澄清法对复方佛手口服液的澄清效果,工艺I和工艺II对中草药有效成分有影响:乙醇沉淀工艺对生物碱、黄酮、苷类、有机酸、萜类、皂苷类能有效保留,但对氨基酸、多肽、多糖、蛋白质、鞣质均有沉淀作用,而ZTC1+1澄清技术可保留更多有效成分如氨基酸、多肽、多糖。乙醇