

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)08-0061-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.08.014



复方玄黄利咽口服液水提工艺优选*

王淋丽¹, 丁家昱^{2△}, 韩宪忠²

(1. 重庆市黔江中心医院, 重庆 409099; 2. 重庆大学附属人民医院·重庆市人民医院, 重庆 400014)

摘要:目的 优化复方玄黄利咽口服液的水提工艺。方法 以乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间、提取次数为考察因素, 哈巴俄苷含量及收膏率的综合评分为考察指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选制剂的水提工艺, 并验证。结果 优选工艺为, 采用药材8倍量(首次用10倍量)的60%乙醇, 热回流提取2次, 每次1.5h; 验证试验中3批次样品哈巴俄苷平均含量为222.52 μg/mL, 平均收膏率为24.22%。结论 优选的水提工艺科学、稳定、可行, 可用于复方玄黄利咽口服液中有效成分的提取。

关键词: 正交试验法; 提取工艺; 优化; 复方玄黄利咽口服液

Optimization of Water Extraction Process for Compound Xuanhuang Liyan Oral Liquid

WANG Linli¹, DING Jiayu², HAN Xianzhong²

(1. Qianjiang Central Hospital of Chongqing, Chongqing, China 409099; 2. Chongqing General Hospital, Chongqing University·Chongqing General Hospital, Chongqing, China 400014)

Abstract: Objective To optimize the water extraction process for Compound Xuanhuang liyan oral liquid. **Method** With as the evaluation index, the $L_9(3^4)$ orthogonal test was used to optimize the water extraction process of Compound Xuanhuang Liyan Oral Liquid with ethanol volume fraction, ethanol dosage, extraction time and extraction times as the investigation factors, and validation test was carried out. **Results** The optimal water extraction process was as follows: adding eight times the amount of 60% ethanol (ten times the amount used for the first time), hot reflux extracting twice, each time for 1.5 hours. In the validation test, the average content of harpagoside in the three batches of samples was 222.52 μg/mL, and the average paste yield was 24.22%. **Conclusion** The optimal water extraction process is scientific, stable, feasible, and can be used for extracting effective ingredients from Compound Xuanhuang Liyan Oral Liquid.

Key words: orthogonal test; extraction process; optimization; Compound Xuanhuang Liyan Oral Liquid

咽炎为咽部的非特异性炎症, 一般分脾气虚弱证、脾肾阳虚证、痰凝血瘀证、外邪侵袭证、肺胃热盛证、肺肾阴虚证。治疗以滋阴凉血, 清热解血为主。复方玄黄利咽口服液由玄参、连翘、麦冬、大青叶、黄芩、地黄、桔梗组方, 有效成分复杂且煎煮过程中不能充分浸出, 易受破坏, 有效成分含量难以控制, 且杂质含量较高。鉴于此, 本研究中拟采用正交试验法优选其水提工艺, 以保障其临床疗效稳定。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 1525型高效液相色谱仪, 含1525型二元泵、2487型双波长紫外检测器、717型自动进样器、Breeze色谱工作站(美国Waters公司); AR1140型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司, 精度为0.01 mg); CS202-A型电热干燥箱(重庆银河试验仪器有限公司); GB11240-89型电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂)。

1.2 试药

哈巴俄苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为111730-202110, 含量98%); 试验所用试剂均为分析纯, 水为纯化水。玄参药材饮片(产地四川, 批号为230401), 连翘药材饮片(产地山西, 批号为231000239), 麦冬药材饮片(产地四川, 批号为D2310264), 大青叶药材饮片(产地甘肃, 批号为23110101), 黄芩药材饮片(产地陕西, 批号为231001), 熟地黄药材饮片(产地河南, 批号为2311002), 桔梗药材饮片(产地安徽, 批号为221201), 均购自重庆乾元医药有限公司。

2 方法与结果

2.1 哈巴俄苷含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱: Waters Symmetry C_{18} 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液(55:45, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL^[1]。

*基金项目: 重庆市重点实验室开发课题项目[2020-2-7]。

第一作者: 王淋丽, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为临床药学, (电子信箱)825170407@qq.com。

△通信作者: 丁家昱, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品质量控制与评价, (电子信箱)dingjiayu0929@163.com。

2.1.2 溶液制备

称取哈巴俄苷对照品 19.95 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得质量浓度为 399.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品贮备液。精密量取 1 mL,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制得质量浓度为 39.90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。取样品适量,以乙醇调至处方中玄参处方量的 10 倍体积量,精密量取 1 mL,置 10 mL 容量瓶中,加 60% 乙醇定容,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按复方玄黄利咽口服液处方比例及工艺制备不含玄参的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

系统适用性试验与专属性试验:精密量取 2.1.2 项下 3 种溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果表明,供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰,阴性对照无干扰。分离度 > 1.5 ,基线分离良好,理论板数以哈巴俄苷峰计应大于 10 000。详见图 1。

线性关系考察:分别精密吸取哈巴俄苷对照品溶液 0.2, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 10.0 mL,置 10.0 mL 容量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积 (Y) 为纵坐标、哈巴俄苷质量浓度 ($X, \mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 176\,530X - 248\,024$ ($r = 0.999\,8, n = 6$)。结果表明,哈巴俄苷质量浓度在 7.98 ~ 399.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密量取哈巴俄苷对照品溶液适量,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积,结果的 RSD 为 0.97% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:量取供试品溶液适量,分别于室温放置 0, 6, 12, 18, 24 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 0.41% ($n = 5$),表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取样品适量,按 2.1.2 项下方法制备

供试品溶液 6 份,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果哈巴俄苷平均含量为 19.87 $\mu\text{g}/\text{mL}$, RSD 为 0.83% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:准确量取已知哈巴俄苷含量的供试品溶液适量,共 6 份,分别精密加入哈巴俄苷对照品适量,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
0.1987	0.1611	0.3594	99.75		
0.1987	0.1611	0.3584	99.13		
0.1987	0.1611	0.3571	98.32		
0.1987	0.2013	0.3997	99.85		
0.1987	0.2013	0.4017	100.84	99.19	0.92
0.1987	0.2013	0.3962	98.11		
0.1987	0.2415	0.4389	99.46		
0.1987	0.2415	0.4380	99.09		
0.1987	0.2415	0.4357	98.14		

2.2 药材吸水率测定

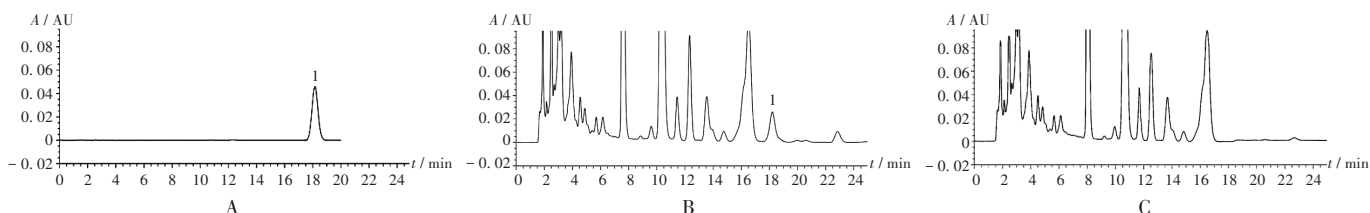
按处方量称取总量为 104.5 g 的药材 4 组,每组平行 3 份,分别加入总量 4 倍的水或 50%, 60%, 70% 乙醇,密封,静置 4 h,滤过,滤渣称定质量,计算每组药材平均吸水率,结果较接近,分别为 2.05, 2.08, 2.13, 2.18 倍体积药材量,为方便投料,拟订该处方吸水率为药材质量 2 倍体积计。

2.3 收膏率测定

准确量取样品 100 mL,置于干燥恒重的蒸发皿中,将盛有样品的蒸发皿置电热恒温水浴锅上水浴蒸干,然后置电热干燥箱中 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重,取出,置于干燥器中冷却,称定质量,计算浸膏收膏率。

2.4 正交试验优选水提工艺

以乙醇体积分数(因素 A)、乙醇用量(因素 B)、回



1. 哈巴俄苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. Harpagoside

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

流次数(因素C)、回流时间(因素D)为考察因素,哈巴俄苷含量和收膏率的综合评分为考察指标。采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选提取工艺。因素与水平见表2,试验设计与结果见表3(乙醇首次用量多加药材2倍体积量,综合评分=哈巴俄苷质量分数/最大值 $\times 0.5 \times 100 +$ 浸膏收率/最大值 $\times 0.5 \times 100$),方差分析结果见表4^[2]。

表2 因素与水平

Tab. 2 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素A(%)	因素B(倍)	因素C(次)	因素D(h)
1	50	6	1	1.0
2	60	8	2	1.5
3	70	10	3	2.0

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Tab. 3 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	因素A (%)	因素B (倍)	因素C (次)	因素D (h)	哈巴俄苷含量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	收膏率 (%)	综合评分
1	1	1	1	1	149.32	14.31	60.35
2	1	2	2	2	206.18	24.05	91.42
3	1	3	3	3	209.67	26.53	96.87
4	2	1	2	3	208.33	22.55	89.07
5	2	2	3	1	223.65	24.38	95.95
6	2	3	1	2	221.77	21.04	89.23
7	3	1	3	2	209.17	25.34	94.52
8	3	2	1	3	215.23	23.15	91.75
9	3	3	2	1	219.15	24.38	94.94
K_1	248.64	243.94	241.33	251.24			
K_2	274.25	279.12	275.44	275.17			
K_3	281.21	281.05	287.34	277.70			
K'_1	82.88	81.31	80.44	83.75			
K'_2	91.42	93.04	91.81	91.72			
K'_3	93.74	93.68	95.78	92.57			
R	10.85	12.37	15.34	8.82			

表4 方差分析结果

Tab. 4 Results of the analysis of variance

方差来源	离差平方和	n	均方	F值	P
A	199.17	2	99.58	1.63	> 0.05
B	370.16	2	185.08	3.04	> 0.05
C	228.95	2	114.48	1.88	> 0.05
D	121.82	2	60.91	1.00	> 0.05
误差	121.82	2	60.91		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

Note: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由表2、表3可知,各影响因素影响强度依次为 $C > B > A > D$,各影响因素对结果均无显著影响($P > 0.05$)。最佳提取工艺为 $A_3B_3C_3D_3$,考虑实际生产情况,修订为 $A_2B_2C_2D_2$,即选用60%乙醇,8倍量(首次用10倍

表5 工艺验证试验结果($n = 3$)

Tab. 5 Results of the verification test ($n = 3$)

指标	1	2	3	\bar{X}
哈巴俄苷含量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	223.18	221.94	222.45	222.52
收膏率(%)	24.66	24.03	23.98	24.22

量)热回流提取2次,每次1.5 h。

工艺验证:按复方玄黄利咽口服液处方比例称取药材适量,3份,分别按修订的最佳工艺提取,测定哈巴俄苷含量,并计算收膏率。结果见表5。

3 讨论

本研究中组方药材的主要有效成分以极性及其半极性成分为主,文献报道多以水或乙醇为提取溶剂^[3-11]。其中评价指标成分哈巴俄苷为环烯醚萜苷类化合物亲脂性较强,能溶于乙醇,难溶于水^[12]。而文献报道多以乙醇为玄参有效成分的提取溶剂^[13-14]。结合组方中其他药材主要有效成分理化性质,选择以稀乙醇为溶剂可利于提取出亲脂亲水混合性有效成分。加热提取时间过长,温度过高可能会破坏组方中部分有效成分,如黄芩苷。因此,设计提取时间分别为1, 1.5, 2 h。通过药材吸水率测定,根据测定结果,在首次提取前,先加药材2倍量体积的稀乙醇浸润药材,然后再加入一定乙醇量,既可起到润湿药材使其易溶出,又可节省乙醇的用量,最终确保药材中有效成分尽可能被提取。试验结果也证实了补充药材吸水量非常必要。正交试验和方差分析结果表明,试验各因素均无显著差异,可能是由于各药材质地均较疏松,块茎较大的药材经粉碎为粗颗粒后,有效成分较易提取。评价指标权重的确定,复方玄黄利咽口服液由多种药材组成,且为一起混合提取,有效成分繁杂,取其方中主药所含有效成分哈巴俄苷作为评价指标之一,仅作为该工艺稳定、可行的参考依据,故设定两者评价权重系数为1:1,既保证了中药复方制剂的质量,又体现了中医治病理论。

综上所述,本研究中优选出的复方玄黄利咽口服液的最佳提取工艺稳定、可行,可用于复方玄黄利咽口服液中有效成分的提取,且适宜于工业化大生产。

参考文献

- [1] 丁家显,车珂科,申丽莎,等. 高效液相色谱法测定养阴合剂中哈巴俄苷含量[J]. 中国药业,2020,29(15):82-84.
- [2] 金伟华,于波涛,张明,等. 复方连翘滴鼻液制备工艺优化及质量控制[J]. 中国药业,2021,30(6):32-35.
- [3] 肖晏婴,陈平,王琨,等. 正交试验法优选玄参多糖的提取工艺[J]. 武汉工业学院学报,2008,27(2):16-17.
- [4] 何晓红,刘飞,伍晓丽,等. 玄参总黄酮提取工艺的研究[J]. 重庆中草药研究,2010,61(1):7-9.
- [5] 赵文渊,刘云颖,姚爽. 连翘有效成分提取工艺的优化[J]. 内蒙古石油化工,2019,45(10):47-50.