

# 星点设计-效应面法优选小儿健脾膏的提取工艺

李媛<sup>1</sup>, 张龙<sup>1</sup>, 崔荣辉<sup>1</sup>, 梁丹<sup>1</sup>, 易蔚<sup>1</sup>, 陈卫卫<sup>1,2\*</sup>

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 南京中医药大学, 南京 210023)

**[摘要]** **目的:** 优选小儿健脾膏的提取工艺。**方法:** 以橙皮苷提取量和浸膏得率的总评“归一值”为因变量, 加水量、提取时间为自变量, 采用星点设计二因素五水平表安排试验, 进行二次多项式拟合, 描绘三维效应面, 通过效应面法选取提取工艺并进行预测分析。**结果:** 最佳工艺条件为加21倍量水煎煮2次, 每次160 min; 橙皮苷平均提取量 $13.245 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 平均浸膏得率42.37%, 总评“归一值”预测值与理论值的偏差率1.429%。**结论:** 优选的提取工艺稳定可行, 可作为小儿健脾膏的生产工艺。

**[关键词]** 小儿健脾膏; 星点设计-效应面法; 提取工艺; 橙皮苷; 浸膏得率

**[中图分类号]** R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0037-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfix.2014070037

## Optimization of Extraction Technology for Children Jianpi Ointments by Central Composite Design-Response Surface Methodology

LI Yuan<sup>1</sup>, ZHANG Long<sup>1</sup>, CUI Rong-hui<sup>1</sup>, LIANG Dan<sup>1</sup>, YI Wei<sup>1</sup>, CHEN Wei-wei<sup>1,2,\*</sup>

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction process of children Jianpi ointments by central composite design-response surface methodology. **Method:** Extraction technology of children Jianpi ointments was optimized by taking water volume and extraction time as independent variables, overall desirability value of extract yield and the content of hesperidin as evaluation index; Central composite design was adopted to design a two factors-five levels table and conduct test-screening, then quadratic polynomial fitting and depicting of 3D-response surface were performed, extraction process was selected by response surface methodology. **Result:** Optimal extraction technology was as follows: extracted twice with 21-folds of water, 160 min per time. Under these conditions, average yield of hesperidin was  $13.245 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , average extract yield was 42.37%, bias between the observed and predicted value was 1.429%. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and feasible, which could be as production process of children Jianpi ointments.

**[Key words]** children Jianpi ointments; central composite design-response surface methodology; extraction technology; hesperidin; yield of extract

小儿消化不良性腹泻是小儿脾胃功能失调而致的一种消化道疾病, 若不及时或治疗不当, 迁延日久, 会影响小儿的生长发育, 且易演变为小儿营养不

良、佝偻病、贫血等慢性疾病<sup>[1-2]</sup>。小儿健脾膏为临床经验方, 由陈皮、炒麦芽等药味组成, 疗效确切, 临床治疗以汤剂入药, 容易霉变且口感不佳。本实验

**[收稿日期]** 20130624(016)

**[基金项目]** 广西壮族自治区大学生创新创业训练计划项目(2012CX009); 广西教育科学“十二五”规划课题(2011C0041); 广西中医药大学教育教学改革与研究课题(2011C09); 广西高等学校特色专业及课程一体化项目(GXTSZY214)

**[第一作者]** 李媛, 硕士, 从事药物制剂研究, Tel:15177478684, E-mail:liyuan8candy@sina.com

**[通讯作者]** \* 陈卫卫, 教授, 从事药物新剂型和新制剂的研发, Tel:18978906076, E-mail:weiweichen2012@sina.com

拟将其制成口味较佳的保健食品——膏方,既保留汤剂的原有疗效又弥补了汤剂的不足,提高小儿患者的顺应性。橙皮苷为陈皮主要有效成分,可反映该复方的有效性。本实验选择橙皮苷提取量和浸膏得率的总评“归一值”为评价指标,采用星点设计-效应面法优选提取工艺,为小儿健脾膏的后续开发提供参考。

### 1 材料

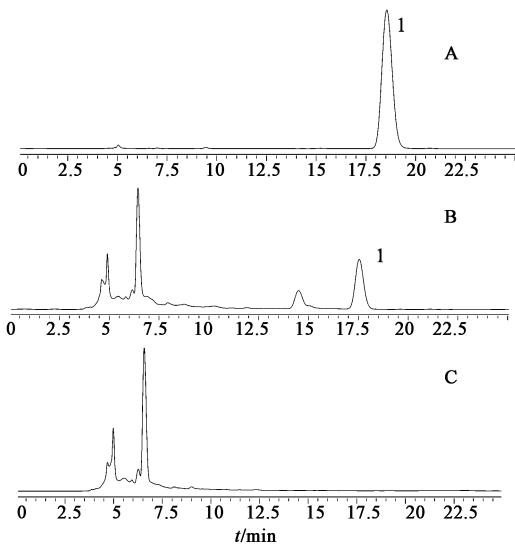
LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), HH-S4 型数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂), TGL-16G 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂), BS224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

陈皮、炒麦芽等药材均购于广西南宁市民族医院佳林药房,经广西中医药大学宁小清副教授鉴定均符合《中国药典》2010 年版一部相关项下要求;橙皮苷对照品(批号 110721-201115,中国食品药品检定研究院),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 橙皮苷的含量测定

**2.1.1 色谱条件** ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 30 °C,流动相甲醇-0.5%冰醋酸(48:52),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 283 nm,进样量 10 μL。理论板数按橙皮苷峰计算应不低于 2 000,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 橙皮苷

图 1 小儿健脾膏 HPLC

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取橙皮苷对照品适量,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成 0.112 g·L<sup>-1</sup>的溶液,即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 称取处方量药材 9 份,按星点试验条件分别进行提取,过滤,滤液浓缩并定容至 50 mL,精密量取 10 mL 置于蒸发皿,水浴蒸干,加甲醇溶解并定容至 10 mL,摇匀,离心(13 000 r·min<sup>-1</sup>)10 min,取上清液,即得。

**2.1.4 阴性样品溶液的制备** 称取处方量除陈皮外其他药材,按 2.1.3 项下方法制备阴性样品溶液。

**2.1.5 标准曲线的绘制** 精密吸取对照品溶液 1.0, 2.0, 5.0, 8.0, 10.0 μL,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 2.961 \times 10^5 X - 4\ 338.3$  ( $r = 0.999\ 7$ ),线性范围 0.112 ~ 1.12 μg。

**2.1.6 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,按 2.1.1 项下色谱条件重复测定 6 次,结果橙皮苷峰面积的 RSD 0.5%,表明仪器精密度良好。

**2.2 浸膏得率的测定** 精密量取水提液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中蒸干,于 105 °C 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称重,计算干膏率。

**2.3 提取工艺的优化**<sup>[3-6]</sup> 在单因素试验基础上,选取加水量(15 ~ 30 倍)、提取时间(90 ~ 180 min)、提取次数为考察因素,由于提取次数为非连续变量,回归处理较困难,结合预试验结果和工业生产实际,将提取数定为 2 次。以橙皮苷提取量和浸膏得率为评价指标,每个指标均标准化的用 Hansan 分别转化为 0 ~ 1 的总评“归一值(OD)”,按  $OD = (d_1 \times d_2 \dots d_k)^{1/k}$  ( $k$  为指标数)计算,按星点设计-效应面法二因素五水平表进行试验,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 小儿健脾膏提取工艺星点试验因素水平

水平	X <sub>1</sub> 加水量/倍	X <sub>2</sub> 提取时间/min
-1.414	15	90
-1	17	103
0	22.5	135
1	28	167
1.414	30	180

采用 Statistica 6.0 统计软件处理数据,以 OD 为指标对各因素进行多元线性回归拟合,得  $Y = -1.013\ 8 + 0.031\ 79X_1 + 0.005\ 71X_2$  ( $r = 0.697\ 1, P < 0.911$ ),说明该方程线性拟合度不佳,方程预测性不好,即该模型不合适。采用二项式模型进行拟合,得  $Y = -6.064\ 1 + 0.319X_1 + 0.036\ 5X_2 - 0.006\ 2X_1^2 - 0.000\ 1X_2^2 - 0.000\ 1X_1X_2$  ( $r = 0.824\ 2$ ),

表2 小儿健脾胃膏提取工艺星点试验安排

No.	$X_1$	$X_2$	橙皮苷提取量 /mg·g <sup>-1</sup>	浸膏得率 /%	总评 OD
1	-1	-1	10.241	38.64	0.262
2	-1	1	12.867	41.05	0.563
3	1	-1	13.448	42.94	0.716
4	1	1	14.974	45.60	0.962
5	-1.414	0	9.054	36.97	0.000
6	1.414	0	8.320	46.30	0.365
7	0	-1.414	7.301	39.89	0.000
8	0	1.414	11.098	44.82	0.645
9~11	0	0	13.503	43.35	0.743

注:9~11号为重复试验,用平均值表示。

表明非线性拟合与线性拟合相比, $r$ 有很大提高,剔除不可信的 $b_3$ 进行重新拟合,得最终二项式数学模型为 $Y = -5.82460 + 0.308394X_1 + 0.034724X_2 - 0.00615X_1^2 - 0.00011X_2^2$  ( $r = 0.8237$ ),简化后方程的 $r$ 值降幅很小,说明此方程可信度较高。以该二项式方程作为分析及模型的预测,通过 Statistica 6.0 软件绘制效应面图,结果见图2。

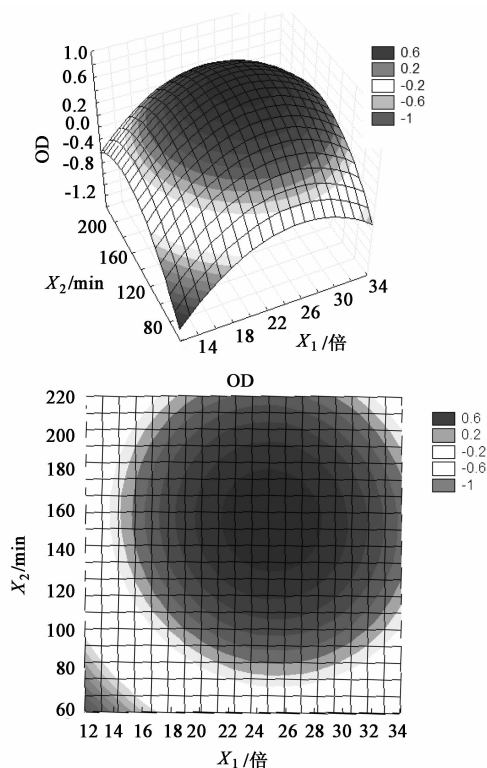


图2 加水倍数和提取时间  
对总评归一值影响的效应面

由图2可知,随着溶剂倍量和提取时间的增加,最优区域OD值 $>0.6$ ,选取较佳范围为 $X_1 = 21 \sim 28$ 倍,提取时间 $X_2 = 140 \sim 190$  min。结合工业生产实际考虑,选定最佳工艺条件为加水量21倍,提取时间160 min,提取数2次。

**2.4 验证试验** 放大处方量5倍,称取药材3份,按优选的提取工艺进行验证试验,结果橙皮苷提取量分别为12.983,13.087,13.666 mg·g<sup>-1</sup>,浸膏得率依次为42.58%,41.93%,42.61%,计算OD实测值分别为0.6674,0.6332,0.7084,平均值0.6697,与理论预测值0.6231的偏差率仅1.429%,表明建立的数学模型具有较好的预测性,优选的工艺条件重复性较好。

### 3 讨论

2010年版《中国药典》中陈皮采用甲醇索氏回流法提取,检测橙皮苷 $>2.5\%$ <sup>[7]</sup>。本文提取的橙皮苷采用水浸提工艺,由于橙皮苷在甲醇中溶解性大于水,故提取含量相对较低,但更为经济环保。本文研究小儿健脾胃膏提取工艺的目的是运用较简单的试验步骤提取出较多的有效成分,以简便操作节约成本,同时减少因长时间加热而造成有效成分的分解。

### [参考文献]

- [1] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 南京:南京大学出版社,1994:45.
- [2] 程凤琴. 中医诊治小儿急性腹泻的规律研究[J]. 中医儿科杂志,2011,7(1):59.
- [3] 蒋荣珍,欧阳小光,黄斌,等. 星点设计-效应面法优选黄芩提取工艺的研究[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(5):33.
- [4] 刘巧利,王柳云,严建业,等. 山楂中总黄酮和多糖的提取工艺研究[J]. 中南林业科技大学学报,2010,30(9):162.
- [5] 杨涛,盛欢欢,李岩,等. 星点设计-效应面法优化穿心莲提取工艺[J]. 中国药学杂志,2011,46(3):208.
- [6] 邱颖,朱玲,孙晓英. 星点设计-效应面优化法与正交设计和均匀设计的比较及其在药剂研究中的应用[J]. 海峡药学,2011,23(2):18.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:176.

[责任编辑 仝燕]