

中心组合设计-效应面法优选化痰祛痰颗粒的提取工艺

贾连群¹, 杨关林^{1*}, 陈阳², 赵钢¹, 任路¹, 张哲¹, 张会永¹, 杜莹¹

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847; 2. 沈阳市第六人民医院, 沈阳 110006)

[摘要] **目的:**采用中心组合设计-效应面法优选化痰祛痰颗粒的提取工艺。**方法:**采用水煎法提取化痰祛痰颗粒中有效部位,以丹酚酸 B 含量为指标,考察提取次数、溶媒用量、提取时间对丹酚酸 B 含量的影响,并对各因素的水平进行二项式拟合,通过响应面分析确定最佳工艺条件。**结果:**最佳提取工艺为加 10 倍量水提取 3 次,每次 1.5 h。丹酚酸 B 含量的实测值(1.027%)与理论值(1.029%)偏差较小。**结论:**中心组合设计-效应面法可用于复方提取工艺的优选,优选的工艺稳定可行,建立的数学模型预测性良好。

[关键词] 中心组合设计; 效应面法; 丹酚酸 B

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0022-03

[doi] 10.11653/syfy2013130022

Optimization of Extraction Technology of Huayu Qutan Granules by Central Composite Design-Response Surface Methodology

JIA Lian-qun¹, YANG Guan-lin^{1*}, CHEN Yang², ZHAO Gang¹,
REN Lu¹, ZHANG Zhe¹, ZHANG Hui-yong¹, DU Ying¹

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China;
2. Shenyang Sixth People's Hospital, Shenyang 110006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of Huayu Qutan granules by central composite design-response surface methodology. **Method:** Effective parts of Huayu Qutan granules was extracted by decoction, with the content of salvianolic acid B as index, extraction times, ratio of solid to liquid and extraction time as independent variables, nonlinear mathematic models were used to estimate the relationship between independent and dependent variables, response surface analysis were delineated according to these mathematic models, and optimum technology conditions were selected. **Result:** Optimum extraction technology was as following: extracted 3 times with 10 times the amount of water, 1.5 h each time. RSD between the measured value (1.027%) and the theoretical value (1.029%) of the content of salvianolic acid B was small. **Conclusion:** Central composite design-response surface methodology was successfully used to optimize extraction technology of compounds, optimized technology was stable and feasible, established mathematical model had good predictability.

[Key words] central composite design; response surface methodology; salvianolic acid B

目前国内常用均匀设计和正交设计进行提取工艺优化,但该两种方法试验精度不够,建立的数学模

[收稿日期] 20130113(001)

[基金项目] 辽宁省高等学校杰出青年学者成长计划项目(LJQ2011100);沈阳市科技局计划项目(F12-277-1-49);中国博士后科学基金特别资助项目(201104611)

[第一作者] 贾连群,博士后,副教授,从事中药防治心血管疾病分子生物学机制研究,Tel:024-21307046,E-mail:jlq-8@163.com

[通讯作者] *杨关林,教授,从事中西医结合防治心血管疾病研究,Tel:024-21307046,E-mail:yang_guanlin@163.com

型预测性较差。中心组合设计-效应面法是国外常用的集数学和统计学方法于一体的设计,具有预测性好、重复性高等特点。化痰祛痰颗粒是我校附属医院临床制剂,由党参、黄芪、丹参、绞股蓝、茯苓等9味中药组成,具有健脾益气、祛痰化痰之功效,疗效确切,并于2007年申请国家专利保护。为规范化痰祛痰颗粒剂的临床应用,提高制剂的内在质量,本实验以丹酚酸B含量为指标,采用中心组合设计-效应面法试验优选该制剂的提取工艺条件,为该制剂的临床应用提供实验依据。

1 材料

LC-1100型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),202-0型台式干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂),AY220型电子分析天平(日本岛津公司)。丹酚酸B对照品(中国药品生物制品检定所,批号562-201009),党参、黄芪、丹参等药材(购自安徽济人药业有限公司,经辽宁中医药大学李学涛副教授鉴定,均符合2010年版《中国药典》相关项下要求),甲醇、乙腈及甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取物的制备 称取处方量药材,加适量水浸泡30 min,提取,过滤,合并滤液,浓缩至相对密度1.15~1.25(60~70℃),置60℃干燥箱中干燥,即得。

2.2 丹酚酸B的含量测定

2.2.1 色谱条件和系统适应性试验^[1] 迪马公司C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59),柱温30℃,检测波长286 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,进样量10 μL。理论踏板数按丹酚酸B计算不低于3 000。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称取丹酚酸B 4.82 mg,置100 mL量瓶中,加75%甲醇75 mL超声10 min,用75%甲醇定容至刻度,得丹酚酸B储备液。精密量取该储备液适量,用75%甲醇配成质量浓度分别为7.23,12.05,24.10,36.15,72.30 mg·L⁻¹的系列对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定色谱峰面积,以丹酚酸B质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 16.925X + 30.965$ ($r = 0.9996$),表明丹酚酸B在7.23~72.30 mg·L⁻¹与峰面积呈良好线性关系。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的干浸膏0.5 g,置锥形瓶中,精密加入75%甲醇50 mL,称定质量,超声30 min(250 W,50 kHz),静置放

冷,称定质量,用75%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,弃去初滤液,续滤液过微孔滤膜,即得。

2.3 中心组合试验设计^[2-3] 在预试验基础上,考察溶媒用量、提取时间和提取次数对化痰祛痰颗粒提取工艺的影响,采用三因素中心组合设计,以丹酚酸B质量分数为指标,因素水平见表1,试验安排及结果见表2。

表1 化痰祛痰颗粒提取工艺的中心设计试验因素水平

水平	X_1 提取数/次	X_2 溶媒用量/倍	X_3 提取时间/h
-1	1	8	1
0	2	10	1.5
1	3	12	2.0

表2 化痰祛痰颗粒提取工艺的中心设计试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	丹酚酸B质量分数/%
1	-1	-1	0	0.556
2	-1	1	0	0.555
3	1	-1	0	0.801
4	1	1	0	0.997
5	0	-1	-1	0.650
6	0	-1	1	0.651
7	0	1	-1	0.951
8	0	1	1	1.011
9	-1	0	-1	0.598
10	1	0	-1	0.870
11	-1	0	1	0.600
12	1	0	1	1.011
13	0	0	0	1.011
14	0	0	0	1.011
15	0	0	0	1.011

采用 Statistica 6.0 统计软件以丹酚酸B质量分数为因变量,分别对各因素进行二次多项式拟合,得方程 $Y = -2.757 + 0.894X_1 - 0.165X_1^2 + 0.294X_2 - 0.013X_2^2 + 0.333X_3 - 0.306X_3^2 + 0.016X_1X_2 + 0.070X_1X_3 + 0.010X_2X_3$ ($r = 0.9731, P < 0.05$)。将各因素对丹酚酸B质量分数进行相关性分析,结果发现, X_3 对丹酚酸B含量的影响最小,且无显著性差异;而 X_1, X_2 因素对丹酚酸B含量的影响具有统计学意义($P < 0.05$)。采用 Statistica 6.0 统计软件绘制各因素对丹酚酸B含量影响的效应图,见图1~3。

由效应面图可知, X_1 与 X_2 对丹酚酸B含量影响的效应面图弯曲度最大,表明 X_1, X_2 因素对丹酚

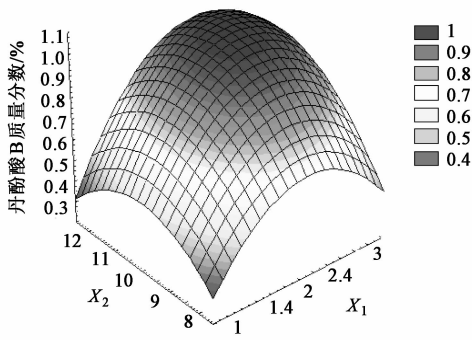


图 1 溶媒用量和提取次数对丹酚酸 B 含量影响的效应面

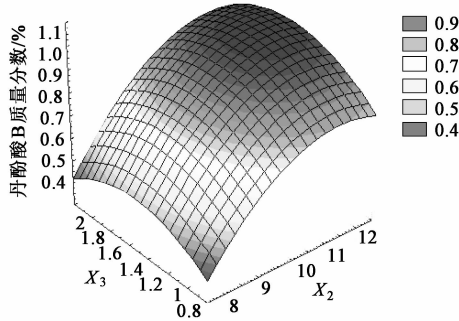


图 2 溶媒用量和提取时间对丹酚酸 B 含量影响的效应面

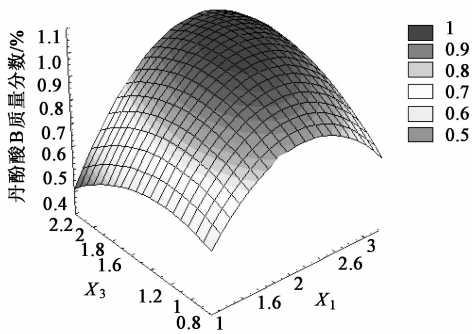


图 3 提取次数和提取时间对丹酚酸 B 含量影响的效应面

酸 B 含量的影响较大。确定化痰祛痰颗粒的最佳提取工艺为加 10 倍量水浸泡 30 min,煎取 3 次,每次 1.5 h,滤过,合并滤液,滤液浓缩至相对密度 1.15 ~ 1.25(60 ~ 70 °C),置 60 °C 干燥箱中干燥。

2.4 验证试验 按优选的工艺条件提取 3 批化痰祛痰颗粒,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,结果测得丹酚酸 B 平均质量分数 1.027% (RSD 0.10%),与预测值(1.029%)很接近,表明优选的

工艺稳定,可预测性好。

3 讨论

丹参具有活血化瘀、通经活络之功效,为方中主药,其主要水溶性成分为丹酚酸 B,具有抗氧化、抗缺血等作用。本实验以丹酚酸 B 含量为指标,采用中心设计-效应面法优选了化痰祛痰颗粒的提取工艺,结果表明建立的数学模型预测性较好。丹酚酸 B 为酸性化合物,加入适量甲酸可改善峰形,防止拖尾现象,故在含量测定时,流动相中加入了少量甲酸。丹酚酸 B 在水溶液中稳定性受温度的影响显著,随温度的升高,稳定性变差,故化痰祛痰颗粒提取时需控制温度 < 60 °C^[4]。试验中对各因素进行二次多项式拟合的 $P = 0.0106$, P 越小响应变量的显著程度就越高^[5-7],验证试验显示丹酚酸 B 的实测值与预测值接近,表明通过中心组合设计-效应面法优选的提取工艺是可行的。

[参考文献]

- [1] 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,2010:70.
- [2] 赵卫星,孙志强,高玉红,等. 响应面法优化百部总生物碱提取工艺的研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2008,36(7):185.
- [3] 张立明,张霞,郑传莉,等. 响应曲面法优化三叶青总黄酮提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 21(10):2588.
- [4] 张文芯,玄律,倪健. 丹酚酸 B 在水溶液中的稳定性研究[J]. 北京中医药大学学报, 2009,32(12):856.
- [5] 陈锡赞,魏学军,林先燕,等. 中心组合设计-响应面法优化天冬多糖提取工艺[J]. 黔南民族医专学报, 2011,24(4):238.
- [6] 田振坤,马英丽,吴伦,等. 星点设计-效应面法优化北五味子果实提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(23):28.
- [7] 柳俊,张建军. Box-Behnken 效应面法优化白芍配方颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):9.

[责任编辑 全燕]