

星点设计-响应面法优选身痛逐瘀汤中挥发油的提取工艺

阮洪生^{1,2}, 马丁¹, 刘树民^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学中医药研究院, 哈尔滨 150040;

2. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

[摘要] 目的: 优选身痛逐瘀汤中挥发油的提取工艺。方法: 以微波功率、料液比、提取时间为自变量, 挥发油得率为因变量, 通过对自变量各水平的多元线性回归及二项式拟合, 采用星点设计-响应面法选取最佳工艺, 并进行预测分析。结果: 最佳提取工艺条件为微波功率 266.77 W, 料液比 1:7.29, 提取时间 4.215 h, 在此条件下, 身痛逐瘀汤中挥发油提取得率的最大估计值为 1.06%, 试验结果与模型预测值相符。结论: 该方法简便合理, 稳定, 可预测性较好。

[关键词] 身痛逐瘀汤; 挥发油; 星点设计; 响应面法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0060-04

Optimization of Extraction Technology for Volatile Oil from Shentong Zhuyu Decoction by Central Composite Design and Response Surface Methodology

RUAN Hong-sheng^{1,2}, MA Ding¹, LIU Shu-min^{1*}

(1. Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Life Science and Technology College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of volatile oil from Shentong Zhuyu decoction. **Method:** With microwave power, liquid-material ratio and extraction time as independent variables, yield of volatile oil as dependent variable, multiple linear regression and binomial of each level of independent variables were fitted. Optimum technology was selected by central composite design and response surface methodology, and prediction was carried out through comparing the observed and predicted values. **Result:** Optimum extraction technology parameters were as follows: microwave power 266.77 W, liquid-material ratio of 7.29:1, extraction time 4.215 h. Under this conditions, maximum estimated value of volatile yield was 1.06% which was agreed with model predicted value. **Conclusion:** Optimized extraction technology was simple, reliable and high predictive.

[Key words] Shentong Zhuyu decoction; volatile oil; central composite design; response surface methodology

身痛逐瘀汤出自清代王清任之《医林改错》,由

秦艽、川芎、桃仁、红花等 12 味中药组成,具活血行气、祛风除湿、通痹止痛的功效,主治瘀血痹阻经络证,用于肩痛、臂痛、腰痛、腿痛或周身疼痛经久不愈症的治疗^[1]。本处方中当归、川芎等 7 味中药均含有挥发油,研究表明挥发油具有很好的镇痛抗炎作用^[2],是很重要的药效成分。

中药提取及制备工艺最常用的优化方法是正交设计法和均匀设计法^[3-4],但这 2 种方法均存在一定不足。星点设计-效应面法作为优选工艺的方法之

[收稿日期] 20110906(012)

[第一作者] 阮洪生,副教授,博士研究生,硕士生导师,从事中药制剂、新药开发及药效物质基础研究, Tel: 0459-6819297, E-mail: ruan_hongsheng@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 刘树民,教授,博士生导师,从事中药临床药效物质基础及中药药性理论研究, Tel/Fax: 0451-82196181, E-mail: keji-liu@163.com

一,很好弥补了上述2种方法的缺陷,在国内外运用广泛^[5-11]。本实验以挥发油得率为指标,采用三因素五水平的星点设计表安排提取工艺试验,结合响应面法优选挥发油提取工艺,为身痛逐瘀汤的深入研究提供参考。

1 材料

PTHW型电子恒温电热套(巩义市予华仪器有限公司),FA2004N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),DZG6050SA型真空干燥箱(上海森信实验仪器有限公司),CW-2000型超声微波协同萃取仪(上海新拓微波溶样测试技术有限公司),挥发油提取器(大庆市振华化玻仪器有限公司,药典规格)。

川芎、桃仁、红花、羌活、没药、当归、香附等药材均购于哈药集团世一堂饮片厂,经黑龙江八一农垦大学孙跃春副教授检验,均符合《中国药典》2010年版一部规定。水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取及测定^[11-12] 取川芎等7味中药饮片,40℃烘干,分别用粉碎机粉碎,过3号筛,按处方比例分别精密称取上述川芎等7味粗粉,每份共55g。试验样品均按要求的料液比浸泡2h,再进行微波提取30min,将药材和提取液全部转移至1000mL烧瓶中,加入沸石数粒,振摇混匀,连接挥发油测定器与回流冷凝管。按2010年版《中国药典》一部附录XD挥发油测定方法进行测定。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。电热套缓缓加热至沸,保持相应时间,停止加热,放置1h,开启测定器下端的活塞,将水缓缓放出收集挥发油。提取液冷却后,用乙醚萃取至水层为无色,合并乙醚液,室温条件下乙醚挥散至小体积,加无水硫酸钠脱水,过滤,转移至称量瓶中,挥干乙醚得纯挥发油,称重,密闭保存。计算挥发油得率。试验重复3次,取平均值。

2.2 星点试验设计 根据工业化生产实际,本试验采用水蒸气蒸馏法提取挥发油。试验中提取次数和药材粒径为非连续变量,回归处理困难,故试验固定提取次数为2次,药材粒径以通过3号筛为准。根据预试验结果,选择微波频率(X_1)、料液比(X_2)和提取时间(X_3)3个因素为自变量,每个因素确定5个水平,共20个试验点(6个中心点),以挥发油得率作因变量考察指标,采用星点设计提取工艺条件,运用响应面分析法分析以寻求最优工艺参数,因素水平编码见表1,试验安排和结果见表2。

表1 当归、川芎等7味药挥发油提取工艺因素水平

水平	X_1 微波功率/W	X_2 料液比	X_3 提取时间/h
-1.682	116	1:4.32	3.16
-1	150	1:5	3.5
0	200	1:6	4
+1	250	1:7	4.5
+1.682	284	1:7.68	4.84

表2 当归、川芎等7味药挥发油提取工艺星点试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	挥发油得率/%	
				试验值	理论值
1	-1	-1	-1	0.49	0.532
2	+1	-1	-1	0.64	0.691
3	-1	+1	-1	0.76	0.756
4	+1	+1	-1	0.91	0.908
5	-1	-1	+1	0.54	0.598
6	+1	-1	+1	0.72	0.762
7	-1	+1	+1	0.84	0.827
8	+1	+1	+1	1.04	1.036
9	-1.682	0	0	0.68	0.649
10	+1.682	0	0	0.98	0.960
11	0	-1.682	0	0.64	0.544
12	0	+1.682	0	0.92	0.963
13	0	0	-1.682	0.74	0.718
14	0	0	+1.682	0.87	0.838
15~20	0	0	0	0.90	0.908

注:15~20号为重复试验,因此均用平均值表示。

2.3 数据分析 应用Design-Expert 7.0.0软件对表2中的数据进行二次多元回归拟合,得到微波功率、料液比及提取时间与挥发油得率之间的二次多项回归方程:

$$Y = 0.91 + 0.092X_1 + 0.12X_2 + 0.036X_3 + 0.011X_1X_2 + 0.000125X_1X_3 + 0.000125X_2X_3 - 0.037X_1^2 - 0.055X_2^2 - 0.046X_3^2 (r = 0.9723)$$

,表明该回归模型的拟合情况良好,其校正决定系数(adj- R^2)为0.8963($r = 0.9467$),表明此模型能解释94.67%效应值变化,因此该模型拟合程度良好。

对上述回归模型进行显著性检验,结果见表3。结果表明,一次项微波功率和料液比对挥发油得率的线性效应极显著($P < 0.01$);一次项提取时间,二次项中 X_1^2, X_2^2, X_3^2 对挥发油得率的曲面效应显著($P < 0.05$); X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3 的 P 均 > 0.05 ,说明各因素间的交互作用不显著。

依据回归方程,在保持1个因素编码值为0时,采用Design-Expert 7.0.0软件绘制其他2个因素与响应值关系的三维响应面图,结果见图1~3。

表 3 回归模型方差分析

方差来源	SS	<i>f</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
X_1	0.12	1	0.12	47.04	<0.000 1
X_2	0.21	1	0.21	86.47	<0.000 1
X_3	0.017	1	0.017	7.14	0.023 4
$X_1 X_2$	1.012×10^{-3}	1	1.012×10^{-3}	0.41	0.534 8
$X_1 X_3$	1.250×10^{-3}	1	1.250×10^{-3}	5.102×10^{-3}	0.944 5
$X_2 X_3$	1.250×10^{-3}	1	1.250×10^{-3}	5.102×10^{-3}	0.944 5
X_1^2	0.020	1	0.020	8.12	0.017 3
X_2^2	0.043	1	0.043	17.68	0.001 8
X_3^2	0.030	1	0.030	12.44	0.005 5
残差	0.024	10	2.45×10^{-3}		
失拟项	0.024	5	4.833×10^{-3}	72.49	<0.000 1
误差	3.333×10^{-4}	5	6.667×10^{-5}		
总离差	0.45	19			
模型	0.42	9	0.047	19.25	<0.000 1

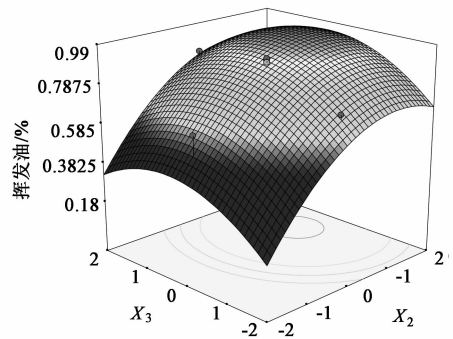


图 3 料液比、提取时间对挥发油得率影响的响应面

2.4 模型的验证 为了验证此提取模型方程的适用性,在微波功率、料液比、提取时间最优的水平上,重复试验 3 次,挥发油得率为 1.02% (RSD 0.17%),与预测值 1.06% 吻合极好,说明用此模型指导实践具有非常好的效果。

3 讨论

药材浸泡是溶剂逐渐穿透药材的细胞壁,加速药效成分溶出和提高提取率的方法之一。本试验虽采用了该方法,但未作为主要影响因素进行考察,只是将其固定在一定范围内。试验过程中,微波加热可导致药材细胞内的极性物质尤其是水分子吸收微波能产生大量的热量,使胞内温度迅速上升,液态水汽化产生的压力将细胞膜和细胞壁冲破,形成微小的孔洞;进一步加热又导致细胞内部和胞壁水分减少,细胞收缩,表面出现裂纹^[13]。孔洞或裂纹的存在使胞外溶剂容易进入细胞内,溶解并释放出胞内产物。故微波萃取技术的采用可大大加速溶剂对固体样品中目标萃取物的萃取过程。

[参考文献]

- [1] 段富津. 方剂学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2007:198.
- [2] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007:214.
- [3] 魏小亮,胡久梅,毛霞. 正交设计法优选川芎挥发油的 β -环糊精包合工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(5):46.
- [4] 廖国平,贺帅,张忠义. 均匀设计法优化超高压提取虎杖中虎杖苷和白藜芦醇[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24):3282.
- [5] 肖莉,张韵慧. 星点设计-效应面法优选南五味子的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(10):22.
- [6] 陈国锋,韩丽妹,施雯,等. 星点设计-效应面法优化龙胆苦苷的纯化工艺[J]. 中国药学杂志, 2009,44(15):1163.

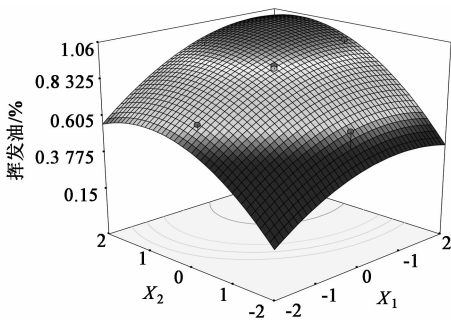


图 1 微波功率、料液比对挥发油得率影响的响应面

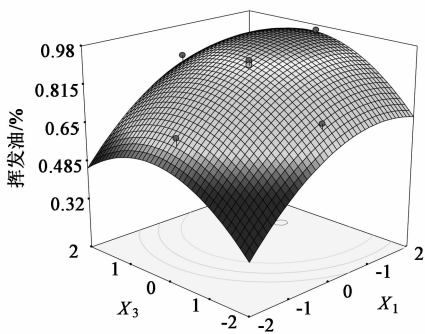


图 2 微波功率、提取时间对挥发油得率影响的响应面

由图 1~3 可知,微波频率和料液比对挥发油的提取影响较为显著,且响应曲面陡峭。为确定 3 个影响因素的最佳取值,通过 Design-Expert 7.0.0 软件分析,得出回归模型存在最大值点, X 的代码值分别为 1.44, 1.29, 0.43, 与之对应的实测值微波频率 266.77 W,料液比 1:7.29,提取时间 4.215 h,此时身痛逐瘀汤中挥发油提取得率的最大估计值为 1.06%。

染料木素水溶性栓剂处方及制备工艺优选

孟庆杰, 潘五九, 王伟明*

(黑龙江省中医研究院, 哈尔滨 150036)

[摘要] **目的:**研究染料木素水溶性栓剂处方及其制备工艺。**方法:**采用正交试验法筛选以聚乙二醇为主体的水溶性栓剂最佳处方,考察不同比例基质对栓剂外观和融变时限的影响。考察成型温度和冷却时间对栓剂性状和融变时限的影响。**结果:**染料木素栓剂制剂工艺的影响因素大小为硬脂酸聚烃氧(40)酯>甘油>聚乙二醇4000;确定染料木素水溶性栓剂最佳处方组成及比例为聚乙二醇4000-硬脂酸聚烃氧(40)酯-甘油为6:3:4;栓剂最佳成型温度70℃,冷却时间0.5h。**结论:**该栓剂的处方设计合理,制备工艺简单可行。

[关键词] 染料木素; 栓剂; 聚乙二醇; 制备工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0063-03

Optimization of Prescription and Preparation Technology for Genistein Water-solubility Suppository

MENG Qing-jie, PAN Wu-jiu, WANG Wei-ming*

(1. Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China)

[Abstract] **Objective:** To study on prescription screening and preparation technology of genistein water-solubility suppository. **Method:** Optimum prescription of this water-solubility suppository with polyethylene glycol as main part was screened by orthogonal design test. Influence of different proportions of matrix on appearance and dissolution variable time limit of this suppository was investigated. Influence of molding temperature and cooling time on appearance and dissolution variable time limit of this suppository was investigated. **Result:** Range of influencing factors for genistein water-solubility suppository was S-40 > glycerine > PEG 4000. The best prescription of genistein water-solubility suppository was PEG 4000-S-40-glycerol 6:3:4. Optimal molding temperature was

[收稿日期] 20111225(005)

[第一作者] 孟庆杰, 硕士, 工程师, 从事中药新药工艺与质量标准研究, Tel: 18745045676, E-mail: mengqingjie6646499@163.com

[通讯作者] * 王伟明, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药剂型改革研究, Tel: 0451-55665478, E-mail: zyyjy@163.com

- [7] 颜廷旭, 杨星钢, 高永生, 等. 星点设计-效应面法优化四逆散渗透泵片处方[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(21):1986.
- [8] 李晶, 张洪霞, 朱鸿敏, 等. 星点设计-效应面法优化升阳散火汤提取工艺[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(5):392.
- [9] Rosa P A J, Azevedo A M, Aires-Barros M R. Application of central composite design to the optimisation of aqueous two-phase extraction of human antibodies[J]. Chromatogr A, 2007, 1141(1/2):50.
- [10] Ensieh Ghasemi, Farhad Raofie, Nahid Mashkouri Najafi. Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves [J]. Food Chem, 2011, 126(3):1449.
- [11] 何群, 王净净, 钟艳, 等. 愈痢灵颗粒剂中3种挥发油的提取及β-环糊精包合物的制备研究[J]. 中成药, 2002, 24(9):660.
- [12] 中国药典. 一部[S]. 2010;附录XD.
- [13] 张代佳, 吕增益. 微波技术在植物细胞内有效成分提取中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(9):附5.
- [责任编辑 仝燕]