

· 工艺与制剂 ·

相似度价比法优选复方蛇床子酊醇提工艺

段晓鹏¹, 石继连¹, 贺福元^{1,2*}, 黄金红¹

(1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208;

2. 中药药性与药效国家中医药管理局重点实验室, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 建立一种评价和优化中药提取工艺的新方法-相似度价比法。方法: 以醇浸出物和蛇床子素含量为评价指标, $L_9(3^4)$ 正交试验考察乙醇体积分数、加醇量、浸渍时间及渗漉速度对复方蛇床子酊醇提工艺的影响, 采用正交方差分析和相似度价比法综合评价和优选复方蛇床子酊醇提工艺。结果: 对于醇提蛇床子素, 正交试验结果表明, 实验室最佳工艺为13倍量70%乙醇浸渍24 h, 以 $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 速度渗漉; 相似度价比法分析表明, 工业化最佳工艺为11倍量70%乙醇浸渍72 h, 以 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 速度渗漉。结论: 相似度价比法是一种优选高收率低成本中药提取工艺的新方法, 优选的工艺稳定, 可行。

[关键词] 复方蛇床子酊; 中药提取工艺; 夹角余弦法; 相似度; 相似度价比法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0017-04

Optimization of Alcohol Extraction Technology for Compound Shechuangzi Tincture by Similarity Bid Method

DUAN Xiao-peng¹, SHI Ji-lian¹, HE Fu-yuan^{1,2*}, HUANG Jin-hong¹

(1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Property and pharmacodynamics Key laboratory of Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new method to evaluate and optimize extraction technology conditions of traditional Chinese medicine-similarity bid method. **Method:** With ethanol extract and the content of osthol as indexes, effect of the concentration of ethanol, the amount of ethanol, dipping time and percolation speed on ethanol extraction technology of compound Shechuangzi tincture by $L_9(3^4)$ orthogonal test, orthogonal variance analysis and similarity bid method were used to comprehensive evaluate and optimize extraction technology of compound Shechuangzi tincture. **Result:** For ethanol extraction technology for compound Shechuangzi tincture, results of orthogonal test showed that optimum process in laboratory was as follows: dipped 24 h with 13 times the amount of 70% ethanol at percolation speed of $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. while results of similarity bid method showed the best industrialization process was: dipped 72 h with 11 times the amount of 70% ethanol at percolation speed of $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** Similarity bid method was a new and effective way in selecting and optimizing optimum industrialized extraction technology for traditional Chinese medicine with higher extraction yield and lower cost, optimized technology was stable and feasible.

[Key words] compound Shechuangzi tincture; extraction technology of traditional Chinese medicine; included angle cosine method; similarity; similarity bid method

[收稿日期] 20110901(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073142,81173558);湖南省教育厅重点项目(09A068)

[第一作者] 段晓鹏, 在读硕士研究生, 从事中药制剂及其质量控制的研究, Tel:13975839979, E-mail:xiaopeng-duan@163.com

[通讯作者] * 贺福元, 教授, 博士生导师, Tel:13787213681, E-mail:pharmsharking@tom.com

复方蛇床子酊是由蛇床子、土荆皮、黄柏等制得的外用中药复方酊剂,具有清热解毒、杀虫等功效,临床上用于治疗湿热带下、皮肤瘙痒及各种妇科炎症。本试验以复方蛇床子酊醇提工艺为模型,在正交试验优选基础上,引入一种新的工艺评价方法-相似度价比法,即将工艺条件转化为相似度来评价各提取工艺之间的相似程度,结合提取率和生产成本来选择和优化中药提取工艺^[1-2]。

1 材料

1525/2487 型高效液相色谱仪(美国 Waters), AR1140 型电子分析天平(美国奥豪斯),蛇床子素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110822-200406),甲醇为色谱纯,乙醇为分析纯,水为重蒸馏水,蛇床子等药材均购于长沙市药材公司,由湖南中医药大学药学院刘塔师教授鉴定蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 的干燥成熟果实;土荆皮为松科植物金钱松 *Pseudolarix kaempferi* Gord. 的干燥根皮或近根树皮等,均为正品。

2 方法与结果

2.1 中药提取工艺条件夹角余弦相似度的计算

主要采用提取工艺中各影响因素的相似度来评价该提取工艺的优化程度。设提取工艺 1 的特征点集表示为 $X(x_1, \dots, x_i, \dots, x_n)$, ($i = 1, \dots, n$), 其中 X 表示工艺影响因素的特征值, n 表示影响因素的个数, 设提取工艺 2 的特征点集表示为 $Y(y_1, y_2, \dots, y_i, \dots, y_n)$ ($i = 1, \dots, n$), 其中 Y 表示工艺的影响因素的特征值。把每个提取工艺的特征点集看做一个向量, 则夹角余弦法^[3]公式表示 2 个提取工艺的相似度如下:

$$S_{XY} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n y_i^2}} \quad (1)$$

式中, S_{XY} 表示提取工艺 1 和 2 的相似度。根据数学原理, 该数值保持在 0 ~ 1。

考虑到提取工艺影响因素的特征值数值大小对整个余弦值的贡献程度不同, 因此把影响因素的每个特征值转化为占该因素总水平之和的百分数来计算其相似度, 即:

$$x_i = \frac{x_i}{\sum_{i=1}^n x_i} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{或 } y_i = \frac{y_i}{\sum_{i=1}^n y_i} \times 100\% \quad (3)$$

以公式(2)或(3)代入公式(1)计算所得到的余弦值能更好体现两提取工艺的相似度。 S_{XY} 值越接近 1, 说明两者相似度越大。

2.2 相似度价比的概念的提出 在经济学上, 常用性价比来评价商品的相对价值^[4], 在中药提取工艺中, 定义某中药提取工艺的提取收率与工艺成本的比值为该工艺的性价比。

$$C = \frac{\eta}{P} \quad (4)$$

其中 C 表示该工艺的性价比, η 表示提取收率, P 表示工艺成本。

把设备、实验条件等影响用常数 K 表示, 且工业化生产的提取工艺条件与实验室提取工艺有一定的相似度。关系如下, 式中常数 K 随着不同企业与不同中药提取工艺而不同。

$$P \propto S_{XY} \cdot K \quad (5)$$

$$C = \frac{\eta}{S_{XY} \cdot K} = \frac{1}{K} \cdot \frac{\eta}{S_{XY}} \quad (6)$$

由于 K 对于某特定的企业和特定的提取工艺是一个定值, 故在评价某一个企业特定的中药提取工艺时, 只需参照提取率与相似度的比值, 即相似度价比值。

$$\alpha = \frac{\eta}{S_{XY}} \quad (7)$$

相似度可评价两提取工艺条件之间的差异程度, 引入相似度价比值, 故在相同提取效率下宜选择更低成本提取工艺, 即相似度价比值越大, 该提取工艺的提取率和经济的综合效益越大。

2.3 正交试验设计 根据药理试验和工艺研究预试验结果, 选定乙醇体积分数、加醇量、浸渍时间及渗漉速度为考察因素, 每个因素选择 3 个水平, 用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 因素水平安排见表 1。

表 1 复方蛇床子酊醇提工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 加醇量 /倍	C 浸渍时间 /h	D 渗漉速度 /mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹
1	60	9	24	1
2	70	11	48	3
3	80	13	72	5

按处方比例称取蛇床子、土荆皮、黄柏等药物粗粉(均过 20 目筛)共 100 g, 加适量乙醇润湿 30 min, 装入渗漉筒, 加乙醇至掩盖药面, 按表 1 方案进行渗漉。收集初漉液约 85 mL, 将续漉液在 85 °C 下减压回收乙醇, 移至蒸发皿中水浴浓缩成浸膏, 加乙醇调含醇量到渗漉所用乙醇体积分数(体积约 400 mL),

与初漉液合并,至总体积至 500 mL,摇匀,滤过,即得提取液。

2.4 醇浸出物含量的测定 精密量取 25 mL 提取液至蒸发皿中,水浴蒸干,在 105 °C 下干燥 3 h,置于干燥器中冷却 30 min,迅速精密称重,计算,即得。

2.5 蛇床子素含量测定^[5]

2.5.1 对照溶液的制备 精密称取蛇床子素对照品适量,加乙醇制成 9.0 mg·L⁻¹ 的溶液,即得。

2.5.2 供试品溶液的制备 分别精密吸取 2.3 中提取液 0.2 mL,置 10 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液即为供试品溶液。

2.5.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除去蛇床子的土荆皮、黄柏等药物粗粉(均过 20 目筛)共 100 g,加适量 70% 乙醇润湿 30 min,装入渗漉筒,加 70% 乙醇至掩盖药面,加 11 倍量 70% 乙醇渗漉,其余操作同 2.3 项下方法。收集初、续漉液的合并液,摇匀,滤过,即得阴性提取液。精密吸取 0.2 mL,按 2.5.2 项下方法定容、滤过后作为阴性对照品溶液。

2.5.4 色谱条件 Hypersil ODS 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(70:30),流速 1.0 mL·min⁻¹,波长 322 nm,柱温 30 °C。

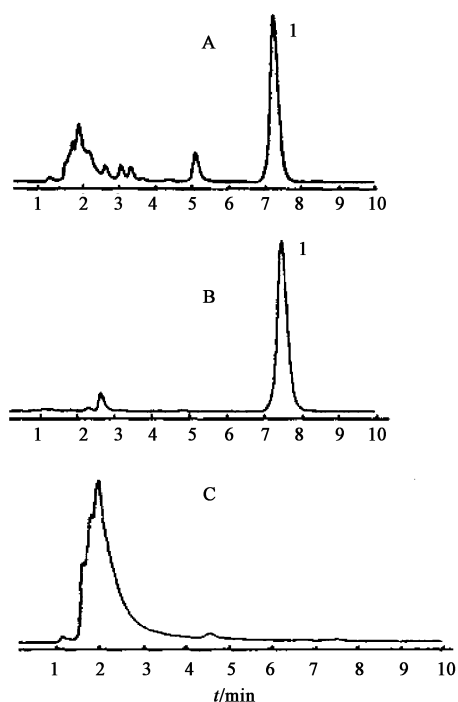
2.5.5 标准曲线绘制 分别精密吸取对照品溶液 2,4,6,8,12,14 μL 进样,以对照品峰面积 Y 对进样量 X 进行线性回归,结果显示蛇床子素在 0.018 ~ 0.126 μg 呈良好的线性关系,得回归方程 $Y = 4.4 \times 10^6 X - 6.0 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)。

2.5.6 样品测定 按 2.5.4 项下色谱条件,采用外标一点法,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各 5 μL 进样。色谱图见图 1。

2.6 数据分析 正交试验结果及分析见表 2~4。

由表 3 结果可知, A 因素对醇浸出物含量差异有统计学意义($P < 0.05$),其他因素无统计学意义;由表 4 可知, A, B, D 3 个因素对蛇床子素含量均无显著性影响。蛇床子素为本制剂的主要有效成分和质量控制指标,由表 2 可知,对蛇床子素提取的影响力依次为 $B > D > A > C$,最佳工艺应为 $A_2 B_3 C_1 D_2$,即 13 倍量 70% 乙醇浸渍 24 h,以 3 mL·min⁻¹·kg⁻¹ 的速度渗漉。

2.7 夹角余弦法优选 按照 2.1 项中公式(2)或(3)把 A, B, C, D 4 个因素水平转化为占该因素总水平和的百分数,按公式(1)夹角余弦法计算其相似度,结果见表 5。与正交分析的最优提取工艺 6 号



A. 供试品; B. 对照品; C. 阴性对照; 1. 蛇床子素

图 1 复方蛇床子醇 HPLC

表 2 复方蛇床子醇醇提工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	J 醇浸出物 /g·L ⁻¹	S 蛇床子素 /g·L ⁻¹
1	1	1	1	1	3.12	0.989 9
2	1	2	2	2	3.32	0.998 5
3	1	3	3	3	3.20	1.009 2
4	2	1	2	3	3.56	1.038 1
5	2	2	3	1	3.56	0.965 4
6	2	3	1	2	3.80	1.094 6
7	3	1	3	2	3.48	1.069 9
8	3	2	1	3	3.57	0.925 6
9	3	3	2	1	3.44	1.050 1
K_{J1}	9.64	10.16	10.49	10.12		
K_{J2}	10.92	10.45	10.32	10.60		
K_{J3}	10.49	10.44	10.24	10.33		
R_J	1.28	0.29	0.25	0.48		
K_{S1}	3.00	3.10	3.01	3.01		
K_{S2}	3.10	2.89	3.09	3.16		
K_{S3}	3.05	3.15	3.05	2.97		
R_S	0.10	0.26	3.08	0.19		

试验条件相比,从工艺相似度来看,8 号试验组与其相似度最大,2,1 号次之,3,4,7,9 号居中,5 号与其相似度最小;从相似度价比值看,8 号的相似度价

表 3 醇浸出物方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.285	2	0.142	25.9	< 0.05
B	0.021	2	0.010	1.87	> 0.05
D	0.039	2	0.020	3.55	> 0.05
C(误差)	0.011	2			

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ (表 4 同)。

表 4 蛇床子素方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	1.703×10^{-3}	2	8.515×10^{-4}	1.70	> 0.05
B	1.296×10^{-2}	2	6.480×10^{-3}	13.0	> 0.05
C	6.911×10^{-3}	2	3.456×10^{-3}	6.91	> 0.05
D(误差)	9.997×10^{-4}	2	4.998×10^{-4}		

表 5 夹角余弦法对醇提蛇床子素工艺相似性的计算

No.	A	B	C	D	S_{XY}	α
1	0.285 7	0.272 7	0.187 5	0.111 1	0.901 6	3.460 3
2	0.285 7	0.333 3	0.375 0	0.333 3	0.905 6	3.666 2
3	0.285 7	0.393 9	0.562 5	0.555 6	0.862 5	3.710 2
4	0.333 3	0.272 7	0.375 0	0.555 6	0.880 5	4.043 2
5	0.333 3	0.333 3	0.562 5	0.111 1	0.767 4	4.639 0
6	0.333 3	0.393 9	0.187 5	0.333 3	1.000 0	3.800 0
7	0.381 0	0.272 7	0.562 5	0.333 3	0.829 7	4.194 2
8	0.381 0	0.333 3	0.187 5	0.555 6	0.914 4	3.904 2
9	0.381 0	0.393 9	0.375 0	0.111 1	0.856 2	4.017 9

比值与实验室最优提取工艺最接近,5 号的相似度价比值最大;同时 5 号和 8 号试验组的醇浸出物含量接近,蛇床子素含量分别为 0.965 4,0.925 6。从提取率和提取工艺成本综合考虑,选择 5 号试验条件为醇提蛇床子素的最佳工业工艺条件,即用 11 倍量 70% 乙醇浸渍 72 h,以 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 速度渗漉。

3 讨论

目前,实验室采用正交试验优化中药提取工艺

时往往只注重中药有效成分提取率的最大化,对其提取成本的考虑较少。本试验以复方蛇床子酊醇提工艺为模型,正交设计优选实验室最优提取工艺,且引用正交试验各组间相似度,判断各提取工艺之间的差异,同时综合考虑工业生产效率与提取成本的影响,采用相似度性价比法优选复方蛇床子酊最优工业提取工艺。相似度性价比法综合考虑了中药提取工艺中有效成分提取效率和提取工艺性价比的影响,旨在优选该工艺的单位提取成本的提取收率,不仅体现提高中药有效成分提取率和纯度的要求,更考虑在工业生产中降低提取成本、提高经济效益与优化中药提取工艺的重要关系,实现了实验室最优工艺向工业化生产最优工艺的过渡。本文中相似度都是规划处理,未考虑不同因素的价格差异,在实际工业生产中,应该在计算工艺相似度时用各因素占总水平的百分数与价格的乘积代替其因素所占总水平的百分数,以便能更好表达出不同工艺的提取收率与提取成本的综合效益,为选择和优化中药提取工艺起重要的指导作用。

[参考文献]

- [1] 何惟胜. 试论中药制剂工艺优化的实验设计[J]. 基层中药杂志, 2001, 15(2): 46.
- [2] 刘那日苏. 走可持续性的新型工业化道路, 实现全面建设小康社会的目标[J]. 内蒙古科技与经济, 2004(1): 52.
- [3] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫淼, 等. 一种评价中药色谱指纹谱相似性的新方法: 向量夹角法[J]. 药学学报, 2002, 37(9): 713.
- [4] 江南春. 模式创新是中国企业的竞争优势[DB/OL], 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House, All rights reserved. Http://www.cnki.net. 2006.
- [5] 刘灿群, 黄香连. HPLC 法则测定青柏洁身洗液中蛇床子素的含量[J]. 中药材. 2004, 27(5): 380.

[责任编辑 全燕]