

正交试验法优选舒经软胶囊提取工艺

于晓^{1,2}, 张芳¹, 吴海峰², 张永清^{1*}, 郑雪²

(1. 山东中医药大学, 济南 250335; 2. 山东医药技师学院, 山东 泰安 271016)

[摘要] 目的: 正交试验法优选舒经软胶囊的提取工艺。方法: 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 以挥发油的提取量为指标, 优选挥发油提取工艺参数; 采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验, 以芍药苷的总量及出膏率为指标, 优选最佳醇提取工艺参数。结果: 挥发油的最佳提取工艺为采用药材粗粉, 加 16 倍量水提取 5 h; 醇提取的最佳工艺为每次加入 10 倍量 70% 的乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h。结论: 工艺参数合理, 质量稳定, 为舒经软胶囊的提取工艺的参数确定提供了实验依据。

[关键词] 舒经软胶囊; 正交试验; 提取工艺; 挥发油; 芍药苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0032-03

舒经软胶囊处方是在古代名方艾附丸(《澹寮才》)的基础上, 结合多年的临床应用经验加减而成, 由香附、赤芍、艾叶、当归等中药组成, 具有行气解郁, 调经止痛的功效, 用于气滞血瘀所致的痛经。根

据处方中药物有效成分的理化性质^[1-3] 和药理作用, 采用水蒸气蒸馏法提取香附、艾叶、当归中的挥发油, 提油后的药渣连同赤芍等药味进行乙醇回流提取。以挥发油提取量、芍药苷总量及出膏率为评价指标, 采用正交试验法优选提取工艺。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦), BP-211D 型分析天平(德国 Sartorius), 101-1A 型电热鼓风干燥箱(南通沪通制药机械设备厂)。

药材均购自济南漱玉平民大药房, 经山东中医药大学张永清教授鉴定均符合 2010 年版《中国药典》一部要求, 芍药苷对照品(中国药品生物制品检

[收稿日期] 20110329(002)

[基金项目] 泰安市大学生科技创新行动计划(2010D2079)

[第一作者] 于晓, 在读硕士, 助教, 从事中药制剂及新剂型研究, Tel: 0538-8941728, E-mail: yxant@163.com

[通讯作者] * 张永清, 教授, 博士生导师, 从事中药资源及其质量控制研究, Tel: 0531-89628085, E-mail: zyq622003@126.com

度。本实验最佳温度为 25 ℃。

据文献[12]报道, 乌梅药材中含有少量的绿原酸, 阴性对照溶液中所出现绿原酸的色谱峰, 初步确定为乌梅所含绿原酸。

本实验通过正交试验确定了最优提取工艺, 稳定性、重现性良好, 可以作为复方疮疡涂膜剂的最优提取工艺。制备工艺考察了不同型号和不同浓度 PVA, 以及不同辅料对成膜性质、外观和成膜时间的影响, 最终确定了制剂的最佳工艺。

[参考文献]

[1] 何显忠, 兰荣德. 金银花的药理作用与临床应用[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(12): 865.
[2] 阮毅铭. 乌梅的化学成份及药理作用概述[J]. 中国医药导刊, 2008, 10(5): 793.
[3] 崔园园, 冯超阳, 张琳琳, 等. 用于生物材料的聚乙烯醇的研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志, 2009, 32(5): 302.

[4] 吕慧英, 刘建芳, 侯艳宁. 涂膜剂中成膜材料的研究和应用进展[J]. 华北国防医药, 2009, 21(3): 30.
[5] 邱小玲, 林缓, 阙慧卿. 涂膜剂的研究概述[J]. 海峡药学, 2009, 21(8): 16.
[6] 潘晓鹃, 沈立, 周玲. 增塑剂对几种涂膜剂成膜材料韧性的影响研究[J]. 中南药学, 2009, 7(8): 561.
[7] 寿张轩. 氮酮应用研究进展[J]. 中国药业, 2002, 11(8): 73.
[8] 孟宪生, 王玉珍, 陈再兴. 疤痕消涂膜剂透皮吸收的研究[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(6): 321.
[9] 张红, 刘宾, 何伟雄, 等. 吡罗昔康涂膜剂的制备与质量控制[J]. 制剂技术, 2009, 18(9): 40.
[10] 李巧, 卢公荣. 复方利福平涂膜剂的制备与应用[J]. 中原医刊, 2004, 31(4): 46.
[11] 王汝卫, 王丽, 刘宝虎, 等. 回药铁棒锤涂膜剂的制备工艺优化[J]. 中国民族医药杂志, 2009, 5: 55.
[12] 李得堂. 中药经皮给药制剂疗筋涂膜剂的研制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2009.

[责任编辑 仝燕]

定所,批号 110736-200526),甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为二次重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺优选 影响挥发油提取的主要因素是药材粉碎粒度、加水量、提取时间,以挥发油的提取量为指标,我们选择 $L_9(3^4)$ 正交表优选香附、艾叶、当归 3 味药材中挥发油的提取工艺。每份试验称取香附 460 g,艾叶 220 g,当归 220 g。按表 1,2 安排正交试验,结果见表 2,3。

表 1 香附、艾叶、当归 3 味药材中挥发油提取工艺因素水平

水平	A 粉碎粒度	B 提取时间/h	C 加水量/倍
1	饮品	3	8
2	最粗粉	4	12
3	粗粉	5	16

注:最粗粉为可通过 10 目筛,但在 30 目筛之上。粗粉指全部通过 30 目筛。

表 2 香附、艾叶、当归 3 味药材中挥发油提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	挥发油得量/mL
1	1	1	1	1	5.00
2	1	2	2	2	8.69
3	1	3	3	3	8.92
4	2	1	2	3	7.22
5	2	2	3	1	8.87
6	2	3	1	2	7.34
7	3	1	3	2	7.55
8	3	2	1	3	7.35
9	3	3	2	1	8.89
K_1	22.61	19.77	19.69	22.76	
K_2	23.43	24.91	24.80	23.58	
K_3	23.79	25.15	25.34	23.49	
R	1.18	5.38	5.65	0.82	

表 3 挥发油提取工艺正交试验方差分析

因素	SS	f	MS	F	P
A	0.155	2	0.077	2.07	>0.05
B	3.216	2	1.608	43.05	<0.05
C	3.547	2	1.773	47.48	<0.05
误差	0.075	2	0.037		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

影响提取结果的因素为 $C > B > A$,其中因素 B, C 有显著影响,最佳提取条件为 $A_3B_3C_3$,即采用药

材粗粉,加 16 倍量水,提取 5 h。

分别称取香附 460 g,艾叶 220 g,当归 220 g 粗粉各 3 份,加 16 倍量水,用水蒸气蒸馏法提取 5 h,放至室温,读取挥发油的提取量分别为 8.98,8.90,8.95 mL。证实了所优选的提取条件为最佳,且重复性好。

2.2 醇提取工艺优选

2.2.1 色谱条件 Aglient C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(12:88),检测波长 230 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温室温,进样体积 20 μL。

2.2.2 对照品溶液制备及回归方程 取芍药苷对照品 22.2 mg,置 50 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。精密量取上述对照品贮备液 1,2,4,8,16 mL,置 25 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密吸取 20 μL,注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积(Y)对进样质量浓度(X)进行线性回归,回归方程为 $Y = 1.96 \times 10^7 X + 5.13 \times 10^4$ ($r = 0.9996$),芍药苷在 0.018 ~ 0.284 g·L⁻¹与峰面积线性关系良好。

2.2.3 样品测定 称取 1/5 处方量的香附、艾叶、当归粗粉,加 16 倍量的水,加热回流 5 h 提取挥发油,滤过,滤液另器收集;药渣与其余药材合并,进行正交试验,滤过,合并滤液,回收乙醇,与上述滤液合并,减压浓缩,干燥,粉碎即得干浸膏,称重,计算出膏率。

另取干浸膏约 0.25 g,精密称定,精密加水 25 mL,称重,超声提取 30 min,放冷,补重,摇匀,滤过,精密吸取续滤液 5 mL 加于中性氧化铝柱(200 目,7 g,内径 10 mm 干法装柱),用水进行洗脱,准确收集洗脱液 25 mL,作为供试品溶液。

2.2.4 正交试验设计安排及结果 影响醇提的主要因素是提取次数、乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间,我们选择 $L_{16}(4^5)$ 设计醇提取工艺,以芍药苷总量及出膏率为考察指标,综合评分为评价指标进行工艺优选。

$$\text{综合评分} = \frac{10 \times \text{芍药苷总量}}{\text{各实验中芍药苷的最高总量}} \times 0.5 + \frac{10 \times \text{出膏率}}{\text{各实验中最高出膏率}} \times 0.5$$

正交试验设计见表 4,5,结果见表 5,6。

结果表明,影响提取结果的因素中 $A > B > C > D$,设定 D 因素为误差项进行方差分析,因素 A 为极显著性影响,因素 B 为显著性影响。最佳提取工艺为 $A_4B_3C_3D_3$,即加入 10 倍量 70% 的乙醇提取 4 次,

表 4 舒经软胶囊醇提取工艺因素水平

水平	A 提取 次数/次	B 乙醇体积 分数/%	C 溶剂 用量/倍量	D 提取 时间/h
1	1	50	6	0.5
2	2	60	8	1.0
3	3	70	10	1.5
4	4	80	12	2.0

表 5 舒经软胶囊醇提工艺正交试验安排及结果

No	A	B	C	D	E	芍药苷 总量/mg	出膏率 /%	综合 评分
1	1	1	1	1	1	1 793.2	14.6	7.50
2	1	2	2	2	2	1 816.7	14.5	7.52
3	1	3	3	3	3	2 423.8	15.1	8.85
4	1	4	4	4	4	1 806.6	16.0	7.92
5	2	1	2	3	4	2 352.5	16.8	9.19
6	2	2	1	4	3	2 335.2	16.7	9.13
7	2	3	4	1	2	2 559.5	17.4	9.75
8	2	4	3	2	1	2 565.6	16.3	9.46
9	3	1	3	4	2	2 314.2	17.9	9.42
10	3	2	4	3	1	2 527.0	17.9	9.83
11	3	3	1	2	4	2 593.3	17.0	9.71
12	3	4	2	1	3	2 419.8	16.8	9.32
13	4	1	4	2	3	2 430.5	18.0	9.67
14	4	2	3	1	4	2 348.6	17.9	9.49
15	4	3	2	4	1	2 479.8	17.3	9.57
16	4	4	1	3	2	2 601.2	17.1	9.75
K_1	31.79	35.78	36.09	36.06	36.36			
K_2	37.53	35.97	35.60	36.36	36.44			
K_3	38.28	37.88	37.22	37.62	36.97			
K_4	38.48	36.45	37.17	36.04	36.31			
R	6.69	2.10	1.62	1.58	0.66			

表 6 醇提工艺正交试验综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	2.797	3	0.932	102.75	<0.01
B	0.276	3	0.092	10.12	<0.05
C	0.164	3	0.055	6.03	>0.05
D	0.156	3	0.052	5.73	>0.05
E(误差)	0.027	3	0.009		

注: $F_{0.05}(3,3) = 9.28, F_{0.01}(3,3) = 29.46$ 。

每次 1.5 h;通过极差分析表分析认为:对于 A 因素其 $R_{2-4} = 0.95$,相比 $R_{1-4} = 6.69$ 差距很大,即提取 2,3,4 次对于本品的提取影响很小,依据中药研制指导原则相关规定,从生产方面考虑,为降低能耗、减少成本,醇提取次数选用 2 次;故醇提取的最佳工艺为加入 10 倍量 70% 的乙醇提取 2 次,每次 1.5 h。

2.2.5 醇提工艺验证试验 按优选的工艺条件进行 3 批样品的验证试验,测定所得提取物中出膏率为 17.7%,RSD 1.17%;芍药苷质量分数为 50.0 mg·g⁻¹,RSD 1.51%。验证结果表明,该优选醇提工艺合理、稳定可行。

3 讨论

本研究综合药效学目标、药效成分的理化性质及大生产实际情况,以提取物中芍药苷的总量及出膏率为指标,全面的考察影响醇提取效率的主要因素,优选最佳醇提取工艺,参数合理,工艺稳定,具有较强的科学性与实用性。本实验选用多指标综合评价;综合有效成分及出膏率,两者对成品的药效有等同的作用,故权重系数各为 0.5。

醇提工艺优选时,试验结果发现当溶剂用量过大或提取时间过长,评分有下降趋势,通过对数据分析其主要原因是芍药苷含量有微量下降导致,检索文献分析^[4]认为当加热提取或浓缩时间过长可能会导致芍药苷含量下降。

[参考文献]

- [1] 黄险峰,彭国平. 香附的化学成分及药理研究进展[J]. 中药材,2003,26(1):65.
- [2] 梅全喜,高玉桥. 艾叶化学及药理研究进展[J]. 中成药,2006,28(7):1030.
- [3] 方洪钜,吕瑞绵,刘国生,等. 挥发油成分的研究 II——中国当归与欧当归主要成分[J]. 药学学报,1979,14(10):617.
- [4] 曾宝,黄晓其,易智彪,等. 芍药苷在生产工艺过程中的含量变化和影响因素研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(14):1472.

[责任编辑 仝燕]