

星点设计-效应面法优选妇雅净泡腾片提取工艺

刘雪梅¹, 王志萍^{1*}, 韦慧鲜²

(1. 广西中医学院 药学院, 南宁 530001; 2. 广西中医学院 研究生院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 采用星点设计-效应面法优选妇雅净泡腾片的提取工艺。方法: 以乙醇量、乙醇体积分数和提取时间为主要影响因素, 以虎杖苷含量、蛇床子素含量和浸膏得率为评价指标, 用星点设计-效应面法选择提取工艺的最佳条件。结果: 最佳提取工艺为加入 10 倍量 60% 乙醇、提取 2 次、每次 2 h。结论: 星点设计-效应面法优选妇雅净泡腾片的提取工艺方法简便, 预测性好。

[关键词] 妇雅净泡腾片; 星点设计-效应面法; 提取工艺; 虎杖苷; 蛇床子素

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0037-04

Optimization of Fuyajing Effervescent Tablet Extraction Process by Central Composite Design-Response Surface Method

LIU Xue-mei¹, WANG Zhi-ping^{1*}, WEI Hui-xian²

(1. Faculty of Pharmacy, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;
2. Graduate School of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** The extraction process of Fuyajing effervescent tablet was optimized by central composite design-response surface method. **Method:** The main influential factors on extraction process included the quantity of ethanol, the concentration of ethanol and extraction time. The extraction conditions were evaluated by the yield of extract and the total content of polydatin and osthole. The response surface methodology was used to optimize the conditions of extraction. **Result:** The optimum condition of extraction was extracted 2 times for two hours with ten times amount of 60% ethanol. **Conclusion:** It is simple, convenient and high predictive to optimize the extraction process of Fuyajing effervescent tablet by central composite design-response surface method.

[Key words] Fuyajing effervescent tablet; central composite design-response surface method; extraction process; polydatin; osthole

妇雅净泡腾片是由虎杖、蛇床子等多味中药组成的复方制剂, 具有清热除湿、解毒消肿、杀虫止痒的功效, 能有效治疗外阴炎、阴道炎、宫颈炎、附件炎、盆腔炎等妇科常见疾病^[1]。原处方为临床经验方, 在临床以外用汤剂入药, 存在剂量大, 需临时煎

煮, 易霉败变质等缺点; 而阴道泡腾片与治疗妇科炎症的常规外用剂型如栓剂、膜剂和普通片剂相比, 具有增加药物与阴道壁、宫颈黏膜的接触, 使药物能快速渗入黏膜皱襞, 从而充分发挥药物作用的优点, 因此拟将其剂型改为泡腾片^[2], 以弥补汤剂的不足。

星点设计-效应面法是国外优选制备工艺的常用方法, 与正交设计法和均匀设计法相比, 实验精度更高, 预测值更接近真实值, 且操作简便, 在实验设计中具有其独特的一面^[3-4]。本文采用星点实验设计方法, 结合效应面法优选妇雅净泡腾片的提取工艺, 并为探讨该方法应用于优化中药提取工艺的可行性提供依据。

[收稿日期] 20101122(005)

[基金项目] 广西壮医院院级课题(P2007048); 广西中医药管理局科技专项(GZKZ09-14)

[第一作者] 刘雪梅, 硕士, 从事制药新技术和剂型设计, Tel: 0771-3137585, E-mail: lenarecome@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 王志萍, 教授, 从事中药制剂工艺研究, Tel: 0771-3137585, E-mail: gxwangping@yahoo.com.cn

1 仪器与试药

S224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), Halogen HB43 型快速水分测定仪(瑞士梅特勒托利多公司), B3200S-T 型超声清洗仪(上海必能信有限公司), Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), DAD, VWD 紫外检测器。

虎杖、蛇床子等药材(均购自南宁市日益旺中草药材经营部, 经广西中医学院中药鉴定教研室蔡毅教授鉴定为正品), 虎杖苷对照品(批号 111575-200502, 中国药品生物制品检定所), 蛇床子素对照品(批号 1108022-200305, 中国药品生物制品检定所), 乙醇为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 星点试验设计 根据体外抑菌杀虫试验^[1]和预试验结果, 采用乙醇回流提取法。回流提取的影

响因素主要有乙醇量、乙醇体积分数、提取时间和提取次数, 因提取次数为非连续变量, 结合工业生产实际, 把提取次数定为 2 次; 其余因素的水平即乙醇量确定为 4 ~ 16 倍、乙醇体积分数 30% ~ 90%、提取时间 30 ~ 150 min。按照星点设计 3 因素表安排实验, 选取君药虎杖中的虎杖苷含量、蛇床子中的蛇床子素含量和浸膏得率作为考察指标。见表 1, 2。

表 1 妇雅净泡腾片乙醇回流提取工艺因素水平

水平	X_1 乙醇体积分数/%	X_2 提取时间/min	X_3 乙醇用量/倍
-1.682	30	30	4
-1	42.2	54.3	6.4
0	60	90	10
+1	77.8	125.7	13.6
+1.682	90	150	16

表 2 妇雅净泡腾片乙醇回流提取工艺星点设计试验及结果

No.	X_1	X_2	X_3	虎杖苷含量/mg	蛇床子素含量/mg	干膏率/%	总评 A 值
1	-1	-1	-1	74.702 9	54.905 1	7.757 2	0
2	+1	-1	-1	176.293 9	163.122 0	9.374 7	0.633 9
3	-1	+1	-1	120.375 5	94.931 7	12.745 4	0.498 6
4	+1	+1	-1	165.231 0	144.297 0	9.246 0	0.554 2
5	-1	-1	+1	173.792 7	139.848 0	14.316 0	0.835 9
6	+1	-1	+1	71.093 3	107.089 9	11.272 1	0.341 1
7	-1	+1	+1	155.055 0	130.741 1	16.037 0	0.827 4
8	+1	+1	+1	109.019 5	164.498 4	11.244 7	0.597 0
9	-1.682	0	0	101.599 3	65.891 9	11.672 9	0.271 5
10	+1.682	0	0	46.867 4	161.254 0	10.359 8	0
11	0	-1.682	0	146.009 9	148.548 2	12.394 8	0.711 8
12	0	+1.682	0	164.712 8	146.490 2	13.467 9	0.815 1
13	0	0	-1.682	84.026 1	75.728 8	6.981 3	0
14	0	0	+1.682	155.173 6	166.812 9	14.201 9	0.857 4
15 ~ 17	0	0	0	153.758 3	152.012 8	12.750 0	0.742 4

注: 15 ~ 17 号为重复试验, 用平均值表示。

应用 Statistica 6.0 软件以总评 OD 值为指标对各因素进行多元线性回归和二项式拟合分析。

2.1.1 多元线性拟合 总评 OD 值 $Y = 0.0278 79 - 0.002 139X_1 + 0.001 745X_2 + 0.049 157 X_3$ ($r = 0.565 2$), $F_{(3,13)} = 2.034 3$ ($P < 0.158 8$), 结果表明总评 OD 值和 3 个影响因素之间的线性关系不好, 呈非线性关系, 故需进行二项式拟合分析。

2.1.2 二项式拟合 总评 OD 值 $Y = -4.624 06 +$

$0.104 416 X_1 + 0.002 948 X_2 + 0.369 495 X_3 - 0.000 61 X_1^2 + 0.000 024 X_2^2 - 0.006 82 X_3^2 - 0.000 064 X_1X_2 - 0.002 82 X_1X_3 - 0.000 165 X_2 X_3$ ($r = 0.920 7$), 结果表明总评 OD 值的二次回归方程拟合度好, 有较高的可信度。

2.2 提取方法 按处方量称取药材, 置圆底烧瓶中, 加入适量乙醇浸泡, 回流提取 2 次, 合并 2 次滤液, 回收乙醇, 制成妇雅静样品溶液(1:1)。

2.3 虎杖苷与蛇床子素的含量测定^[5]

2.3.1 色谱条件 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈为流动相 A,水为流动相 B,按表 3 中的规定进行梯度洗脱;检测波长 306,322 nm;流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 ℃,理论塔板数按蛇床子素峰计算应不低于 3 000。

表 3 梯度洗脱流动程序

t/min	乙腈/%	水/%
0~20	15	85
20~22	15~65	85~35
22~34	65	35

2.3.2 对照品溶液的配制 精密称取适量虎杖苷对照品和蛇床子素对照品,各加甲醇溶解,制成质量浓度为 0.032 g·L⁻¹的虎杖苷对照品溶液和质量浓度为 0.062 g·L⁻¹的蛇床子素对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的配制 精密量取 2.2 项下的

样品溶液 5 mL 以 60% 乙醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中,过滤,精密量取 1 mL 溶液,经高速离心后作为高效液相的供试液。

2.3.4 测定法 分别精密吸取对照品溶液 10 μL,供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪测定其峰面积,计算含量。

2.4 干膏率的测定 精密吸取供试品溶液 50 mL,置于干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干,于 105 ℃干燥 3 h 以上,移置干燥器中,冷却 0.5 h,迅速称重,直至样品恒重后,计算干膏率。

2.5 工艺参数优化和预测 本课题以二项式拟合方程作为分析及模型的预测,未将模型进一步简化。固定 3 个自变量中的一个为中值,以拟合的目标函数为数学模型,绘制因变量曲面图,将三维曲面图作相应旋转,得到效应面平面图,从效应面平面图上读取总评 OD 值最佳的实验条件。见图 1。

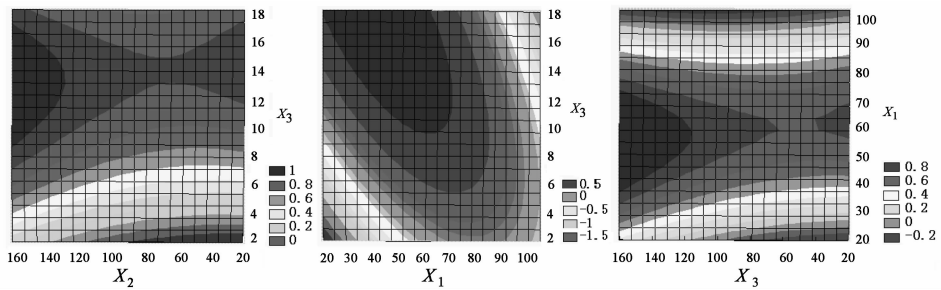


图 1 乙醇回流提取效应面

当乙醇体积分数为中心点时,即 $X_1 = 60\%$,随着乙醇用量的增加,OD 值增加较明显,呈一直上升的趋势,最优区域 OD 值在 0.9~1.0,这时提取时间在 120 min 以上,乙醇用量为 10~17 倍。

当提取时间为中心点时,即 $X_2 = 90$ min,乙醇体积分数 20%~65%,随着乙醇用量的增加,OD 值增加较明显,呈一直上升的趋势,但最大值不高,最优区域 OD 值为 0.5;OD 值不大,说明了在这个中心点乙醇体积分数和乙醇量对总评 OD 值的影响不大。

当乙醇用量为中心点时,即 $X_3 = 10$ 倍,随着乙醇体积分数和提取时间的增加,OD 值增加较明显,最优区域 OD 值为 0.8,这时乙醇体积分数为 40%~70%,提取时间在 120 min 以上。

综合考虑,最佳提取工艺确定为 10 倍量 60% 乙醇提取 120 min。

2.6 验证试验 根据较佳工艺条件再提取妇雅静样品溶液 3 份,结果见表 4。

表 4 妇雅静泡腾片提取工艺验证试验

No.	虎杖苷含量/mg	蛇床子素含量/mg	干膏率/%	总评 OD 值	预测 OD 值	偏差/%
1	140.199 5	169.611 4	13.287 8	0.801 4		
2	144.502 4	169.736 2	12.509 1	0.778 8		
3	142.029 6	166.394 1	13.863 3	0.822 6	0.806 4	-2.54
平均	142.243 9	161.913 9	13.220 1	0.785 9		

醒脑灵颗粒渗漉提取工艺

江志强¹, 张建军²

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] 目的: 优选醒脑灵颗粒的最佳渗漉提取工艺。方法: 采用单因素试验法, 以丹参酮 II_A 提取率、大黄总蒽醌提取率和得膏率为考察指标, 对影响醒脑灵颗粒渗漉提取工艺的因素进行研究。结果: 最佳渗漉工艺为药材粗粉碎, 用 2 倍量 70% 乙醇浸泡 24 h, 以 3.0 mL·min⁻¹·kg⁻¹ 速度渗漉, 收集 6 倍量渗漉液。结论: 优选的渗漉提取工艺提取效率高, 验证试验结果表明该提取工艺重复性好、稳定可行。

[关键词] 醒脑灵颗粒; 丹参酮 II_A; 大黄总蒽醌; 渗漉法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0040-04

Percolation Extraction Process of Xingnaoling Granules

JIANG Zhi-qiang¹, ZHANG Jian-jun²

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the conditions for the percolation extraction processes of Xingnaoling granules. **Method:** The content of total anthraquinones in Rhei Radix et Rhizome and tanshinone II_A and the yield of dry ointment were used as indexes to select the optimal extraction processes with single factor test. **Result:** The

[收稿日期] 20101108(011)

[第一作者] 江志强, 博士研究生, 从事中药新制剂的研究, Tel: 020-83590129, E-mail: 149866965@qq.com

实际测得平均 OD 值为 0.785 9, 与理论预测值 (0.806 4) 偏差为 -2.54%。证明所选提取工艺可行。

3 讨论

本实验考虑到虎杖苷及蛇床子素的含量测定均以乙醇和水组成流动相, 通过调整该流动相的比例和时间进行梯度洗脱, 可以同时测定虎杖苷及蛇床子素的含量, 且分离效果好, 达到了节省测定时间和次数的效果。

星点设计-效应面优化法中, 模型的拟合首先运用多元线性回归分析, 以 *F* 检验判断模型的优劣, 如果因变量与变量的线性拟合较好, 表明因变量与变量之间呈线性关系, 分析就此结束。如果线性拟合较差, 要用二次回归模型分析即二项式拟合, 通过复相关系数判断拟合效果, 根据方差检验判断方程的显著性。如果二次回归模型分析效果不佳, 则根据二次回归模型方程描绘效应面, 从效应面的三维图

来选择最佳区域, 从而得出最佳工艺的条件。

本实验提示星点设计-效应面法优选妇雅净泡腾片的提取工艺, 方法简便, 预测性良好, 可在中药制剂的新药研发中进一步推广应用。

[参考文献]

- [1] 王志萍, 梁裕芬, 梁丹, 等. 妇雅净浸膏体外抑菌杀虫作用的实验研究[J]. 广西中医药, 2007, 30(3): 54.
- [2] 田秀峰, 边宝林. 中药泡腾片及工艺研究进展[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(7): 624.
- [3] 吴伟, 崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学: 药学分册, 2000, 27(5): 292.
- [4] 吴伟, 崔光华, 陆彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(8): 530.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2005: 145, 219.

[责任编辑 全燕]