

多指标综合评分法优选烧伤灵涂膜醇提取工艺

康阿龙¹, 张娴¹, 汤迎爽²

(1. 解放军第四五一医院, 西安 710054; 2. 解放军第三二三医院, 西安 710054)

[摘要] 目的: 优选烧伤灵涂膜的最佳醇提取工艺。方法: 以浸膏得率和大黄素、盐酸小檗碱提取率为评价指标, 用多指标综合评分法进行数据处理, 采用正交试验考察乙醇体积分数、乙醇用量、回流时间、回流次数对提取效果的影响。结果: 烧伤灵涂膜最佳醇提取工艺为: 加 6 倍量的 95% 乙醇, 加热回流 3 次, 每次 2 h。结论: 该提取工艺设计合理, 结果可靠, 提取效果较好。

[关键词] 烧伤灵涂膜; 大黄素; 盐酸小檗碱; 正交试验; 综合评分法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0018-03

Optimization of Extraction Technology for Shaoshangling Film with Multiple Guidelines Grading Method

KANG A-long¹, ZHANG Xian¹, TANG Ying-shuang²

(1. No. 451 Hospital of PLA, Xi'an 710054, China; 2. No. 323 Hospital of PLA, Xi'an 710054, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the preparation process for Shaoshangling Film by alcohol. **Method:** The contents of emodin and berberine hydrochloride and the yield of extract were used as index of appraisal. Data processing was carried out with the multiple guidelines grading method for optimizing the extraction condition. The orthogonal experimental design was introduced to optimize the conditions of the alcohol extraction technology. The experiment were involved four factors, concentration of alcohol, amount of alcohol, refluxing time, times of refluxing. **Result:** The best extraction technology was that refluxing 3 times, refluxing 2 hours each time and in 6 times amount of 95% alcohol. **Conclusion:** The process is simple, reasonable and reliable.

[Key words] Shaoshangling Film; emodin; berberine hydrochloride; orthogonal test; grading methods

烧伤灵涂膜是我院根据原有制剂进行重新优化组合成的新制剂, 由虎杖、黄连、白及等组成的现代中药复方制剂, 具有清热解毒、收敛、抗渗出, 促进创口组织愈合功能。用于烧伤烫伤等的治疗, 疗效显著。虎杖主要含以大黄素为指标成分的蒽醌类成分, 黄连主要成分为以小檗碱为指标成分的生物碱类, 此二类成分均本方中的主要药效成分, 在乙醇中溶解性较好, 故确定对方中的主要药味采取混合醇提的工艺路线。本文采用正交试验对其最佳工艺

参数进行了优选, 根据预试验结果, 并参考中药制剂提取工艺的技术要求和需注意的问题^[1-2], 设计 L₉(3⁴) 正交试验表。

1 仪器与试剂

SP-8810 型高效液相色谱仪(美国光谱物理公司), 浙江大学 N2000 工作站; JA2003N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司); 大黄素对照品(供含量测定用, 110756-200110), 盐酸小檗碱对照品(供含量测定用, 0713-200107)(均购自中国药品生物制品鉴定所); 试验用药材均购自西安中药饮片厂, 经检验均符合《中国药典》2005 年版一部; 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 大黄素的含量测定(HPLC^[3])

[收稿日期] 20100526(004)

[第一作者] 康阿龙, 副主任药师。研究方向: 中药新药, 医院药学, Tel: 029-84734159, E-mail: kalong1900@163.com

2.1.1 色谱条件 色谱柱 DiamonsiL (™) C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (80:20), 检测波长 254 nm, 柱温室温, 流速 1 mL·min⁻¹。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品适量, 加甲醇制成 48 mg·L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密吸取提取液 0.5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 精密加入三氯甲烷 25 mL 和 2.5 mol·L⁻¹ 硫酸溶液 20 mL, 称定质量, 置 80 °C 水浴中加热回流 2 h, 冷却至室温, 再称定质量, 用三氯甲烷补足减失的质量, 摇匀, 分取三氯甲烷液, 精密吸取 10 mL, 蒸干, 残渣加适量甲醇使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 分别精密吸取对照品溶液 (0.48 mg·L⁻¹) 1, 2, 3, 4, 5 mL, 分别稀释成 0.048, 0.096, 0.144, 0.192, 0.240 mg·L⁻¹ 的溶液; 各精密吸取 10 μL 进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积 *A* 为纵坐标, 大黄素含量 (μg) 为横坐标, 计算回归方程为: $A = 2E + 06C - 14\ 784$, 相关系数 $r = 0.999\ 9$, 线性范围为 0.048 ~ 0.24 μg。

2.2 盐酸小檗碱含量测定 (HPLC)

2.2.1 色谱条件 色谱柱 DiamonsiL (™) C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 0.033 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾-乙腈 (60:40), 检测波长 345 nm, 柱温室温, 流速 1 mL·min⁻¹。

2.2.2 对照品溶液的的制备 精密称取在 100 °C 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品, 加流动相制成 46 μg·mL⁻¹ 的溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密吸取提取液 0.5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相 40 mL, 超声处理 20 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过 (0.45 μm), 取续滤液, 即得。

2.2.4 标准曲线的绘制 分别精密吸取对照品溶液 (0.46 mg·L⁻¹) 2, 4, 6, 8, 10 mL, 分别稀释成 0.092, 0.184, 0.276, 0.368, 0.460 mg·L⁻¹ 的溶液; 各精密吸取 10 μL 进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积 *A* 为纵坐标, 盐酸小檗碱含量 *C* (μg) 为横坐标, 计算回归方程 $A = 1\ 824.3C - 17\ 376$, 相关系数 $r = 0.999\ 9$, 线性范围为 0.092 ~ 0.460 μg。

2.3 浸膏得率的测定 分别精密吸取各提取液 1 mL, 置已恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 烘箱 105 °C 干

燥 3 h, 移至干燥器中, 冷却 30 min, 迅速称定质量, 计算浸膏得率, 即得。

2.4 正交试验设计 采用 L₉ (3⁴) 正交试验设计, 以大黄素、盐酸小檗碱为主要评价指标, 以醇浸出物得率为次要指标, 考查回流次数 (*A*)、乙醇体积分数 (*B*)、乙醇用量 (*C*)、回流时间 (*D*) 4 个因素的最佳参数。权重系数按大黄素、盐酸小檗碱、醇浸出物得率三者所占比例 4:4:2 来确定, 综合评价提取工艺条件。提取方法: 按处方比例, 准确称量样品 9 份, 按正交试验安排表进行提取, 各提取液回收乙醇后, 调整体积至 100 mL, 作为测定各指标的提取液, 备用。根据预试验结果, 确定了各因素水平设置, 水平因素见表 1, 正交试验结果见表 2。

表 1 提取工艺因素水平

	<i>A</i> 回流次数/次	<i>B</i> 乙醇体积分数/%	<i>C</i> 加醇量/倍	<i>D</i> 回流时间/h
1	1	65	6	1.0
2	2	80	8	1.5
3	3	95	10	2.0

表 2 提取工艺正交试验结果

No	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	大黄素 /%	盐酸小 檗碱/%	醇浸膏 得率/%	综合 评分
1	1	1	1	1	0.406	1.724	5.83	71.71
2	1	2	2	2	0.420	1.853	6.15	75.48
3	1	3	3	3	0.424	1.968	6.37	78.00
4	2	1	2	3	0.424	1.948	7.13	79.47
5	2	2	3	1	0.436	2.019	6.62	80.30
6	2	3	1	2	0.465	2.089	8.66	88.41
7	3	1	3	2	0.432	2.088	7.89	85.93
8	3	2	1	3	0.485	2.671	8.62	98.50
9	3	3	2	1	0.495	2.718	8.60	99.95
<i>K</i> ₁	225.19	237.11	258.62	251.96				
<i>K</i> ₂	248.18	254.28	254.90	249.82				
<i>K</i> ₃	284.38	266.36	244.23	255.97				
<i>R</i>	59.19	29.25	14.39	6.15				

由表 2 结果直观分析可见, 最佳醇提工艺为 A₃B₃C₂D₃, 即加 8 倍量 95% 乙醇, 回流提取 3 次, 每次 2 h, 由极差 *R* 可知, 对醇提影响最大的提取次数 (*A*), 其次是乙醇体积分数 (*B*), 最后是加醇量 (*C*) 和回流时间 (*D*)。以 *D* 因素为误差项进行方差估算, 见表 3。

表 3 提取工艺方差分析结果

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	593.60	2	296.80	91.32	<0.05
B	144.03	2	72.02	22.16	<0.05
C	37.20	2	18.60	5.72	>0.05
D(误差)	6.50	2	3.25	1	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$; $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

由表 3 可见,回流次数(A)和乙醇体积分数(B)对提取效果有显著性影响,而加醇量(C)无显著性影响,考虑到节约成本,确定加醇量为 6 倍。回流次数为 3 次,乙醇浓度 95%,回流时间 2 h。

按确定的最佳工艺,进行 3 次平行验证试验,分别测定大黄素、盐酸小檗碱和醇浸膏得率,结果见表 4。

表 4 提取工艺验证试验结果

No.	大黄素提取率 /%	盐酸小檗碱 /%	醇浸膏得率 /%
1	0.407	2.562	8.53
2	0.496	2.725	8.15
3	0.508	2.770	8.37
平均	0.470	2.686	8.35

由表 4 可见,优选出的最佳工艺参数合理可靠,大黄素、盐酸小檗碱和醇浸膏的提取率均较高,根据试验用药材含量计算,大黄素的提取转移率为: $0.470\% \div 0.66\% \times 100\% = 71.21\%$; 盐酸小檗碱的提取转移率为: $2.686\% \div 3.83\% \times 100\% = 70.13\%$ 。说明提取效率较高。

3 讨论

本文以大黄素、盐酸小檗碱和浸膏得率 3 项指

标作为优选最佳工艺参数的考察指标,并采用综合评分法^[4],根据各因素的重要性分别占不同的权重系数,方法科学合理,优选出的工艺条件合理可靠,为下一步中试或大生产打下了良好的实验基础。

药典中收录的黄连中的盐酸小檗碱含量测定方法为薄层扫描法,但是由于其操作属于开放系统,对其测定准确性的影响因素很多,为了保证测定结果的可靠准确,我们在参考文献基础上^[5],采用高效液相色谱法测定提取液中盐酸小檗碱的含量,方法学验证显示所建立的方法准确可靠。

药材中的有效成分的提取转移率高低是衡量工艺是否合理和可靠的重要指标之一,本试验优选出的最佳工艺参数,经 3 次平行试验验证,显示大黄素和盐酸小檗碱的提取转移率均在 70% 以上,说明此工艺的提取效率高,合理可靠。

[参考文献]

- [1] 杜小曦. 中药新药制备工艺研究的技术要求及问题分析[J]. 中国中药杂志,2001,26(12):802.
- [2] 林亚平. 中药制剂试验设计中需要注意的若干问题[J]. 中国中药杂志,2001,26(9):579.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:145.
- [4] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2000:778.
- [5] 孙文基,谢世昌. 天然药物成分定量分析[M]. 北京:中国医药科技出版社,2003:71.

[责任编辑 仝燕]

(上接第 17 页)

PVPP 作为崩解剂后,压制的片剂外观不均匀,出现白色斑点,表明其在颗粒表面吸附性欠佳,与颗粒不易混匀,故不适于本制剂。本制剂单用硬脂酸镁作为润滑剂时,其颗粒的休止角偏大,流动性差,可能对片重差异产生影响。为改善颗粒的流动性,故考虑加入适量的助流剂。微粉硅胶是一种常用的片剂助流剂,其用量一般为 0.15% ~ 3%。实验表明,本制剂加入颗粒量 0.5% 的微粉硅胶后,颗粒的休止角明显缩小,显示其流动性得到改善。

[参考文献]

- [1] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:1.
- [2] 侯世祥. 中药新制剂成型性研究思路与方法[J]. 中国中药杂志,2000,25(1):4.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:附录 7.

[责任编辑 仝燕]