

正交试验优选通脑精胶囊的提取工艺

陈浩*, 夏伦祝

(安徽中医学院第一附属医院药学部, 安徽 合肥 230031)

[摘要] 目的: 优选通脑精胶囊的提取工艺。方法: 利用正交试验法, 考察乙醇用量(A)、回流次数(B)、回流时间(C) 3 个因素对提取工艺的影响, 每个因素设计 3 个水平, 大黄素、干浸膏为考察指标成分; 用薄层扫描法测定大黄素含量, 烘干法测定干浸膏得率。结果: 因素 B、C 对指标成分含量有显著性意义, 最佳提取工艺为 A₂B₃C₃ 即乙醇用量为药材质量的 10 倍量、8 倍量、8 倍量, 煎煮 3 次, 提取时间分别为 2 h、1.5 h、1.0 h。结论: 正交试验法筛选通脑精胶囊生产工艺简便、快速、准确。

[关键词] 正交试验法; 提取工艺; 大黄素; 通脑精胶囊

[中图分类号] R286.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)05-0030-03

通脑精胶囊为安徽中医学院第一附属医院干部病房制剂, 由大黄、川芎、石菖蒲、郁金四味中药组成, 该制剂具有行气化痰, 活血解毒的功效, 临床上具有明显的改善和治疗中老年中风的作用。为了筛选其提取工艺的最佳条件, 保证临床疗效稳定, 我们采用正交试验法通过考察乙醇用量, 回流次数及回流时间的影响, 以干膏得率和大黄素含量为指标对其提取工艺进行优选研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 CAMAG TLC Scanner-3 薄层扫描仪, CAMAG Nanomat 4 点样仪, CAMAG 双槽展开缸, 高效硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工集团); SK3200H 超声仪(上海科导超声仪器有限公司); KDM 型调温电热套(山东省滕城光明仪器有限公司); HH-S 型数控水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂); 101A-S1 型数显电热鼓风干燥箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司); BP211D 电子分析天平(德国 Sartorius); DZF-6020 真空干燥箱(巩义市英峪予华仪器厂)。

1.2 试剂 大黄、石菖蒲、川芎、郁金药材饮片各 1 000 g(由安徽中医学院第一附属医院中药房提供); 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110756-200110); 其他所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 干浸膏得率的测定 以原处方比例取药材, 按表 1 设计的顺序, 各加入设定的溶媒量。加热回流

规定时间和次数, 滤过, 合并滤液。浓缩成浸膏, 移至经 110 °C 干燥 3 h 至恒重的蒸发皿中, 置真空干燥箱内, 82 °C 左右减压干燥, 取出置烘箱中干燥至恒重, 取出置干燥器中, 放置 30 min, 迅速称重。按公式计算干浸膏得率(%) = 干浸膏(g) ÷ 原药材(g) × 100%

2.2 大黄素含量的测定

2.2.1 薄层扫描条件 双波长反射法锯齿扫描, 检测波长: $\lambda = 445 \text{ nm}$, $\lambda_R = 550 \text{ nm}$, 狭缝: 6.0* 0.45 mm, 散射系数: SX= 3。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称取大黄素对照品 0.16 mg, 置 2 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 分别精密吸取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 μL 点样。以峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归, 大黄素 $Y = 34.235X + 421.664$, $R = 0.9992$, $RSD = 1.82\%$ 。

2.2.3 供试品溶液制备及测定 精密称取干浸膏 1 g, 置 100 mL 回流瓶中, 加蒸馏水 25 mL, 盐酸 5 mL, 置沸水浴中, 加热回流 1 h。放冷, 过滤, 另取 10 mL 浓盐酸少量多次淋洗滤渣, 合并滤液, 置 125 mL 分液漏斗中, 加氯仿(30, 30, 20 mL)提取 3 次, 合并氯仿液, 水浴蒸干, 加甲醇定容至 1 mL, 作为供试品溶液。

2.3 溶媒初选实验与结果

2.3.1 溶媒初选实验设计 以原处方比例称取药材粗粉, 溶媒分别为水, 40%、50%、60%、70%、75%、80%、85% 乙醇, 按表 1 设计的顺序, 各加入设定的溶媒量。以干浸膏得率和大黄素含量为考察指标, 初选实验安排及考察指标计算结果见表 1 和表 2。

[收稿日期] 2009-09-10

[通讯作者] * 陈浩, Tel: 13075553123

2.3.2 溶媒初选实验结果分析 综合干浸膏得率和大黄素含量两项指标: 75% 乙醇提取最佳。

表 1 溶媒初选实验安排

提取次数	溶媒量(倍)	提取时间(h)
第一次	10	2.0
第二次	8	1.5
第三次	8	1.5

表 2 溶媒初选实验考察指标计算结果

溶媒 (乙醇)	出膏率 (%)	每 g 干膏中大黄 素含量(mg)	每 g 生药中大黄 素含量(mg)
水	27.43	0.022 94	0.006 29
40%	26.55	0.036 20	0.009 61
50%	23.88	0.033 76	0.008 06
60%	24.67	0.039 92	0.009 85
70%	17.64	0.017 98	0.003 17
75%	21.41	0.046 34	0.009 92
80%	14.50	0.061 47	0.008 91
85%	19.18	0.023 29	0.004 47

2.4 正交试验设计与结果

2.4.1 正交试验设计 称取处方中各净制药材粗粉, 以 75% 乙醇为溶剂, 以乙醇用量, 回流次数和回流时间为考察因素, 每个因素设立 3 个水平(见表 3), 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表, 正交实验安排及考察指标计算结果见表 4, 评分时以各指标的最大值为参照将数据进行归一化, 再给出不同的权重。大黄素含量权重系数设为 0.8, 干膏得率权重系数设为 0.2。方差分析结果见表 5。

表 3 正交试验因素水平表

水平	因素		
	A 乙醇用量(倍)	B 回流次数(次)	C 微沸回流时间(h)
1	8	1	1.0
2	10	2	1.5
3	12	3	2.0

2.4.2 正交试验结果分析 对大黄素含量和干膏得率而言: 方差分析结果说明各因素提取效果的影响程度依次为 $B > C > A$, 即影响最大的是回流次数, 其次是微沸回流时间, 而乙醇用量没有显著性影响。由各因素水平下的含量高低和 K_i 值大小可知各因素的最优水平组合为 $A_1B_3C_3$, 考虑药材的吸水性和生产成本, 最终确定通脑精胶囊的提取条件为: 煎煮 3 次, 乙醇用量分别为药材质量的 10 倍量、8 倍量、8

倍量, 提取时间分别为 2, 1.5, 1.0 h。

表 4 正交试验安排及考察指标计算结果

试验号	A	B	C	大黄素含量 (mg × 1000)	干膏 得率	综合 评分
1	1	1	1	2.88	12.09	5.04
2	1	2	2	4.97	20.55	8.64
3	1	3	3	5.90	20.20	9.88
4	2	1	2	4.21	14.14	7.03
5	2	2	3	4.64	21.07	8.26
6	2	3	1	5.62	21.44	9.62
7	3	1	3	4.09	15.86	7.03
8	3	2	1	4.42	20.38	7.89
9	3	3	2	5.61	20.53	9.53
K_1	23.56	19.10	22.55			
K_2	24.91	24.79	25.20			
K_3	24.45	29.03	25.17			
R	1.35	9.93	2.65			

注: 大黄素含量综合评分 = 大黄素含量/大黄素最高含量 × 0.8 × 10; 干膏得率综合评分 = 干膏得率/干膏最高得率 × 0.2 × 10; 综合评分 = 大黄素含量综合评分 + 干膏得率综合评分。

表 5 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	显著性
A	0.10	2	0.05	1.67	> 0.05
B	5.51	2	2.76	92.00	< 0.05
C	0.51	2	0.26	8.67	> 0.05
误差	0.06	2	0.03		

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

2.4.3 优化条件的重复性试验 按照筛选出的条件进行了 3 次重复性试验, 再测定大黄药材中大黄素的含量, 计算大黄素的转移率, 结果见表 6。结果表明该工艺提取率高、稳定可行。

表 6 重复性试验结果

试验号	出膏率 (%)	每 g 干膏中大黄 素含量(mg)	每 g 生药中大黄 素含量(mg)	转移率 (%)	平均转移 率(%)
1	20.93	0.027 64	0.005 784	97.03	
2	20.62	0.028 03	0.005 780	96.96	97.12
3	21.08	0.027 54	0.005 804	97.37	

3 讨论

本方重用生大黄逐瘀通经, 凉血解毒, 泻热通便, 为方中之君。故选择功效重要且成分确切的大黄为提取工艺考察对象。大黄素是大黄的主要活性成分蒽醌衍生物之一, 因此, 以大黄素作为评价指标

是合理可行的,同时结合干浸膏得率综合评价提取工艺,既考虑了传统中药的特点,又与现代研究结果相结合,对提高制剂水平,制定科学经济的工艺流程提供了参考。

[参考文献]

[1] 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: 17.

[2] 苗明山, 李振国. 现代实用中药质量标准控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 66.

[3] 郑虎占, 董泽宏. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 第二卷, 1997: 364.

[4] 杜利云, 莫亚雄. 薄层扫描法测定胆清片中大黄素的含量[J]. 中成药, 2000, 22(9): 617-618.

[5] 胡运昌. 薄层扫描法测定抗炎宁颗粒中大黄素的含量[J]. 中成药, 2002, 24(9): 723-725.