

• 制剂工艺 •

权重系数评分法优化立血康软胶囊的提取工艺

陈大中^{*}, 张 洋, 闫广利

(黑龙江中医药大学中医药研究院, 黑龙江哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 对立血康软胶囊的提取工艺进行优化。方法: 用乙醇作溶剂提取处方中 2 种药材的活性成分, 按正交表 L^9 (3^4) 安排试验, 以大黄素和大黄酚的总含量和浸膏收率为指标, 对含量和浸膏收率以不同的权重系数加权评分, 考察影响醇提取效率 4 个因素的主次。结果: 醇溶性成分提取的最佳工艺为: 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 溶剂用量为 8 倍量。结论: 本法能最大限度地提取处方中各种药材的有效成分, 可为立血康软胶囊的工业化生产提供理论依据。

[关键词] 立血康软胶囊; 提取工艺; 权重系数; 大黄素; 大黄酚

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)10-0020-03

Optimization of Extraction Procedure of Lixuekang Soft Capsule In Weighted Mark Method

CHEN Da-zhong^{*}, ZHANG Yang, YAN Guang-li

(Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction procedure of Lixuekang Soft Capsule. **Method:** The procedure was configured by a sampling of orthogonal design with different ethanol extraction solvent uses. The yield of extracts and

[收稿日期] 2008-01-31

[基金项目] 黑龙江省教育厅资助课题(11521263)

[通讯作者] * 陈大中, Tel: 13936260385

the total contents of emodin and chrysophanol were used as assessment index and based on different weighted coefficient for evaluation of the extraction efficiency of ethanol. **Result:** The optimal procedure was using the circulation reflux for 3 times with 8 times 70% ethanol, 2 hours each time. **Conclusion:** The method can extract effectively active components in Lixuekang Soft Capsule and provide tab data for industrialized manufacture of Lixuekang Soft Capsule.

[**Key words**] Lixuekang Soft Capsule; extraction procedure; weighted coefficient; emodin; chrysophanol

立血康软胶囊是临床使用多年经验处方,经现代科学方法研制而成的中药制剂,其处方由中药大黄、三七、熊胆粉组成。临床主要用于血液黏稠、高血脂的治疗。根据处方组成药味所含活性成分的特点,确定对方中大黄、三七采用乙醇提取的方法,以大黄素和大黄酚含量的总和为指标,结合乙醇提取的固形物的收率,对两者进行加权评分,优化选取提取条件。

1 仪器与试剂^[1]

高效液相色谱仪(福立分析仪器有限公司);紫外检测器(福立分析仪器有限公司);N2000 高效液相色谱工作站(浙江大学智达信息工程有限公司);十万分之一电子天平(瑞士梅特勒公司);大黄素对照品(0756-9908,中国药品生物制品检定所);大黄酚对照品(796-9302,中国药品生物制品检定所),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 提取工艺的优化^[2] 按处方比例称取大黄 50 g,三七 50 g,粉碎,选定不同乙醇浓度(A)、提取时间(B)、提取次数(C)、溶剂倍数(D)作为考察因素,选用 L₉(3⁴) 正交表进行试验,因素水平安排见表 1。以大黄素和大黄酚含量总和,结合总固形物的收率,对两指标以不同的权重系数进行加权后计算分值,经过方差分析,确定出合理的提取工艺。

表 1 正交试验因素水平表

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 每次提取 时间(h)	C 提取次数	D 溶剂用量 (倍数)
1	60	3	1	10
2	70	2	2	8
3	80	1	3	6

2.2 大黄素和大黄酚的含量测定^[3]

2.2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil C18 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(85:15), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 254 nm。

2.2.2 标准曲线的绘制 分别精密称取大黄素对照品 0.91 mg、大黄酚对照品 2.21 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得。精密吸取混合对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别转移置 5 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述各对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 按上述条件进行测定, 记录色谱图。以进样量(μg) 为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 进行线性回归方程计算。得大黄素回归方程为: $Y = 2.6 \times 10^3 + 4.0 \times 10^7 X$ ($r = 0.9999$), 表明大黄素在(0.0182~0.182) μg 之间呈良好的线性关系; 大黄酚回归方程为: $Y = 6.9 \times 10^3 + 1.9 \times 10^7 X$ ($r = 0.9999$), 表明大黄酚在(0.0442~0.442) μg 之间呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 精密吸取大黄素和大黄酚对照品溶液各 10 μL, 连续进样 6 次测定峰面积。结果, 大黄素峰面积的相对标准差(RSD) 为 1.14% ($n = 6$); 大黄酚峰面积的相对标准差(RSD) 为 1.26% ($n = 6$), 表明精密度良好。

2.2.4 样品含量测定^[4] 取浸膏样品适量, 精密称定, 置锥形瓶中, 分别加入 2.5 mol·L⁻¹ 硫酸溶液 10 mL, 超声处理(功率 120 W, 频率 45 kHz) 5 min, 加入三氯甲烷(CHCl₃) 10 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 转移置分液漏斗中, 用少量 CHCl₃ 洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取 CHCl₃ 溶液, 酸液用 CHCl₃ 振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 合并 CHCl₃ 液, 以无水 Na₂SO₄ 脱水, CHCl₃ 液回收溶剂置干。残渣精密加入甲醇溶液 50 mL, 称定重量, 置水浴中微热溶解, 放冷后再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 精密滤去续滤液 5 mL 转移置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

分别精密吸取 1~9 号供试品溶液 10 μL 以及大黄素和大黄酚混合对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪中, 按照上述条件进行测定, 分别计算含量, 列入正交试验设计表中; 将 1~9 号试验总固形物收膏率同时列入正交试验设计表中。采用综合评分法, 将含量测定中大黄素和大黄酚含量最高的计为 10 分,

其他各项依次与之对比评分,然后将出膏率最高的同样计为 10 分,与之对比也依次对 9 个样品分别评分。对于影响提取工艺的主要因素大黄素和大黄酚含量权重系数设定 0.6;次之因素总固形物出膏率权重系数设定 0.4,进行加权评分,公式为 $Y = 0.4Ya + 0.6Yb$, $Ya = (10 - 10.29) + y_1$; $Yb = (10 - 0.541) + y_2$,结果见正交试验设计表。正交试验及方差分析结果分别见表 2、表 3。

表 2 正交试验设计与结果

试验号	A 乙醇 浓度(%)	B 提取时间 (h)	C (次数)	D 溶剂用量 (倍数)	出膏率 (%) Y_1	含量 (g) Y_2	综合 评分 Y
1	1	1	1	1	6.86	0.157	8.702 1
2	1	2	2	2	9.74	0.306	9.670 5
3	1	3	3	3	9.90	0.359	9.755 6
4	2	1	2	3	8.19	0.381	9.258 0
5	2	2	3	1	10.29	0.541	10.00 0
6	2	3	1	2	5.74	0.244	8.427 1
7	3	1	3	2	9.59	0.432	9.713 7
8	3	2	1	3	7.38	0.257	8.928 2
9	3	3	2	1	6.72	0.321	8.775 0
I_j	28.128 2	27.673 8	26.057 4	27.477 1	$CT = \frac{1}{9} (\sum_{i=1}^n Y_i)^2 = 769.696 2$		
II_j	27.685 1	28.598 7	27.703 5	27.811 3	$SS_A = \frac{I_1^2 + II_1^2 + III_1^2}{3} - CT = 0.086 1$		
III_j	27.416 9	26.957 7	29.469 3	27.941 8	$SS_B = 0.451 3$		
$\frac{I_j + II_j + III_j}{3}$	769.782 3	770.147 5	771.637 2	769.734 5	$SS_C = 1.941$ $SS_D = 0.038 3$		

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	0.086 1	2	0.043 1		
B	0.451 3	2	0.225 7	7.26	< 0.05
C	1.941 0	2	0.970 5	31.21	< 0.01
D	0.038 3	2	0.019 2		
误差 e(A+ D)	0.1244	4	0.0311		

$F(2, 4)_{0.05} = 6.94$

2.2.5 正交试验结果与分析 根据表 2~ 3 方差分析,因素 A, D 离差平方和较小,该因素对试验结果影响贡献很低;同时,因为 4 因素 3 水平正交表中无空白组误差项,将其加和作为本次试验设计的误差项。因素 C 具有显著性差异,为提取工艺的主要影

响因素。根据分析结果,最佳提取工艺应为 $A_2B_2C_3D_3$,但从临床服用剂量尽量减低和节约实际生产成本的考虑,因素 A 选择 A_2 较为合适;溶剂的用量差异不显著,以剂量高浸过药材为宜,故选择 D_2 ,最终提取工艺为: $A_2B_2C_3D_2$,即 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,溶剂用量为 8 倍量。

2.2.6 工艺验证实验 根据正交实验方差分析获得的最佳提取工艺方案,称取 10 倍处方量的大黄 500 g,三七 500 g,以 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,测定出膏率和大黄素及大黄酚的含量,结果见表 4。

表 4 工艺验证实验数据

批号	总固形物出膏率(%)	大黄素和大黄酚含量总和(%)
07001	9.97	0.521
07002	10.04	0.517
07003	10.02	0.496

3 讨论

立血康软胶囊由大黄、三七和熊胆粉组成,对大黄、三七采用乙醇提取,有利于活性成分获得的同时降低总固形物的出膏率,适合软胶囊内容物药物含量相对比例小的特点,可以保证服用药物的治疗剂量。在实验方法方面,正交试验考察优化提取工艺过程中,采用了多指标的综合评价方法,利用捕获到的含量测定结果和总固形物收膏率的数据,根据指标因素对提取工艺影响的贡献大小的差异给予分配不同的权重系数,进行加权求和。这种分析方法既保证了数据指标的全面性,又可根据各指标不同的影响程度进行权重的分配,保证分析采样指标全面的同时,对于关键影响因素又给予了相应的侧重,使分析结果更为科学和客观,保证提取工艺路线的优化合理,可信。

[参考文献]

- [1] 魏玉梅,薛利华,李 炜,等. HPLC 测定一清软胶囊中大黄素和大黄酚的含量[J]. 西北药学杂志, 2007: 22 (6): 173.
- [2] 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: 17-18.
- [3] 钟伏生,钟小群,蔡庆顺,等. HPLC 测定元和正胃胶囊大黄素和大黄酚含量[J]. 中成药, 2007, 29(9): 8-9.
- [4] 傅应华,黄越燕,朱琦峰,等. 正交试验优化健胃灵颗粒的提取工艺[J]. 中国药房, 2007, 18(9): 656-657.