

用正交试验设计优选舒儿腹贴提取工艺的研究

李江*, 杨桂华, 丁彦吉
(贵阳中医学院药学系, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 优选舒儿腹贴中处方药材的最佳提取工艺。方法: 分别以挥发油得率和胡椒碱含量作为测评指标, 采用单因素考察舒儿腹贴中处方药材挥发油的最佳提取工艺, 用正交试验法对挥发油提取后的药渣进行醇提工艺的优选。结果: 以加 10 倍量水浸泡 2 h 后用水蒸气蒸馏法提取 8 h 为挥发油最佳提取工艺; 醇提工艺以加入 12 倍量 85% 的乙醇提取 2 次, 每次 1.5 h 最佳。结论: 该工艺对挥发油和胡椒碱的提取率高, 稳定性好, 适合工业化生产。

[关键词] 舒儿腹贴; 挥发油; 胡椒碱; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0017-03

舒儿腹贴由大果木姜子油、胡椒、丁香、白术、吴茱萸、肉桂、冰片组成。舒儿腹贴具有温中健脾、助阳止泻、行气止痛的功效。其方中药材的挥发油是有效部位, 而胡椒为方中君药胡椒的有效成分^[1]。故本实验采用正交试验设计法, 以挥发油得率和胡椒碱的含量为指标进行舒儿腹贴最佳提取工艺的研究。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 Waters600 型, 717 型自动进样器(美国 Waters 公司); KQ3200DE 型医用数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); DZF-6000 型真空干燥箱(上海基玮试验仪器设备有限公司); DFY-300 型摇摆式中药粉碎机(温岭市林大机械有限公司); AUW120D 电子分析天平(日本岛津公司); 试验用药材胡椒、丁香、白术、肉桂、冰片、吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 均购于贵州济仁堂药业有限公司(处方比例 1: 1: 1: 1: 1: 1), 大果木姜子油(自制) *Cinnamomum migao* H. W. Li^[2] 经贵阳中医学院中药鉴定教研室刘芃教授鉴定; 色谱甲醇(天津科密欧化学试剂有限公司, 批号: 20060614); 胡椒碱对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 0775-9702); 水为重蒸馏水; 其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺的优选

2.1.1 浸泡时间研究 以吸水率来确定浸泡时间。称取吴茱萸、胡椒、肉桂、丁香、白术总计 31.5 g 药材粗粉, 置于 500 mL 烧杯中, 加入 315 mL 水后密闭, 分 5 组, 分别浸泡 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 h, 称取并记录吸水后药材重量。结果见表 1, 表明浸泡 2 h 后药材吸水率不再有明显增加, 故选择 2 h 为最佳浸泡时间。

表 1 不同浸泡时间对药材吸水率的影响

时间 (h)	浸泡前重量 (g)	吸收水分重量 (g)	吸水率 (%)
0.5	31.5	13.40	44.67
1.0	31.5	13.87	46.23
1.5	31.5	14.84	49.47
2.0	31.5	15.16	50.53
2.5	31.5	15.20	50.67

2.1.2 挥发油提取时间的研究 称取吴茱萸、胡椒、肉桂、丁香、白术总计 700 g 药材粗粉, 置于 5 000 mL 圆底烧瓶中, 加 10 倍量体积的水, 浸泡 2 h, 分别采用水蒸气蒸馏法提取挥发油至油量不再增加, 每隔 1 h 量取挥发油体积。结果在提取到 7 h 挥发油累积为 11.9 mL, 8 h 累积为 12.1 mL, 9 h 挥发油累积量不再增加仍为 12.1 mL, 因此选择 8 h 为挥发油最佳提取时间。

2.1.3 加水量的确定 称取吴茱萸、胡椒、肉桂、丁香、白术总计 31.5 g 药材粗粉 3 份, 分别加入 8、10、12 倍水, 浸泡 2 h, 提取挥发油 8 h 后量取挥发油体积, 计算挥发油得率。结果见表 2, 加入 10 倍量水挥发油的收率最大, 故选为最佳工艺参数。

[收稿日期] 2007-10-30

[通讯作者] * 李江, Tel: (0851) 5937181; E-mail: lijiaang2005zy@126.com。

表 2 不同加水量对舒儿腹贴挥发油得率的影响

加水量(倍)	药材总量(g)	挥发油得率(%)
8	31.5	1.721
10	31.5	1.729
12	31.5	1.720

综合上述结果,以挥发油量为考察指标,通过单因素考察合并综合分析,舒儿腹贴挥发油最佳的提取工艺为将药材粉碎成粗粉后加 10 倍量水,浸泡 2 h,水蒸气蒸馏法提取 8 h。

2.2 胡椒碱的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 甲醇:水(77:23)为流动相;流速为 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 434 nm;柱温 30℃。

2.2.2 对照品溶液配制 取胡椒碱对照品加甲醇制成浓度为 0.163 2 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 精密称取 0.05 g 浸膏粉,置于 25 mL 棕色容量瓶中,加入甲醇约 20 mL,超声 30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即可。

2.2.4 线性关系考察 精密称取减压干燥后的胡椒碱对照品,用甲醇溶解并制成浓度为 0.163 2 mg·mL⁻¹ 对照品溶液。精密吸取胡椒碱对照品溶液 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4 μL 注入液相色谱仪,按以上条件进行测定。以峰面积积分值 A 为纵坐标,进样量(μL)为横坐标绘制标准曲线,其回归方程为 $Y = 1.00 \times 10^6 X + 1.13 \times 10^5$, $r = 0.9997$; 胡椒碱在(0.16 ~ 0.65) μg 之间呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度实验 精密吸取同一胡椒碱对照品溶液 10 μL,按检测条件重复进样 6 次,记录峰面积。RSD 为 0.38%,结果表明精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样,测定峰面积。RSD = 1.23%,表明在测定时间 8 h 内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 精密量取同一批样品(20060412)5 份,各 10 μL 按 2.2.3 项下制备方法进行含量测定,记录峰面积, RSD 为 2.74%,结果表明重复性好。

2.2.8 回收率试验 精密称取样品 6 份,分别精密加入胡椒碱标准品溶液 1 mL(约等于样品中所含胡椒碱),按供试品溶液制备方法进行制备,测定并记录峰面积。结果平均回收率为 100.18%, RSD = 1.39%,本方法具有良好的回收率。

2.3 醇提工艺的优选

2.3.1 研究方法 药材提取挥发油后药渣还富含大量有效成分,尤其是中等极性的物质如生物碱等有效成分易透过皮肤产生治疗作用,因此必须对药渣进行提取。根据生物碱易溶于乙醇的性质,用乙醇对药渣进行提取。本文采用提取液中胡椒碱含量为测评指标,以醇浓度(%),加醇倍量,醇提时间(h),醇提次数为考察因素,各因素水平见表 3;采用 L₉(3⁴) 正交表^[3]进行试验,胡椒碱的含量采用 2.2 项下方法测定,正交试验结果见表 4,方差分析结果见表 5。

表 3 醇提因素水平

水平	因 素			
	A 醇浓度 (%)	B 加醇倍量 (倍)	C 醇提时间 (h)	D 醇提次数
1	75	8	0.5	2
2	85	10	1.0	3
3	95	12	1.5	4

表 4 醇提正交试验结果

编号	A	B	C	D	胡椒碱含量 (μg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	131.78
2	1	2	2	2	139.05
3	1	3	3	3	158.91
4	2	1	2	3	152.68
5	2	2	3	1	176.44
6	2	3	1	2	159.45
7	3	1	3	2	139.05
8	3	2	1	3	126.80
9	3	3	2	1	133.88
K ₁	143.25	141.17	139.34	147.37	
K ₂	162.86	147.43	141.87	145.85	
K ₃	133.24	150.75	158.13	146.13	
R	29.61	9.58	18.79	1.52	

表 5 醇提正交方差分析结果

误差来源	SS	df	F	F _{0.05}	P
A	1361.57	2	348.41	19.00	< 0.05
B	141.90	2	36.31	19.00	< 0.05
C	623.94	2	159.66	19.00	< 0.05
D(误差)	3.91	2	1.00	19.00	

2.3.2 直观分析 醇提工艺各因素对胡椒碱含量影响大小为 A > C > B > D, 即醇浓度为最大影响因素,其次为提取时间和溶剂用量,提取次数无显著差异,故最佳组合为 A₂B₃C₃D₁。

2.3.3 最佳工艺验证性实验 按上述优选的提取工艺进行 3 批样品提取,并以胡椒碱含量为指标,按

2.2 项下色谱条件进行含量测定, 结果见表 6, 结果表明该提取工艺稳定可行, 因此优选出的最佳醇提工艺为加入 12 倍量 85% 的乙醇提取 2 次, 每次 1.5 h。

表 6 醇提工艺验证结果

批号	固体物量 (g)	胡椒碱总含量 (mg·g ⁻¹)	平均值 (mg·g ⁻¹)	RSD (%)
20060410	3.60	176.30		
20060411	3.25	175.54	176.11	0.29
20060412	3.73	176.50		

3 讨论

考虑小儿给药的特殊性, 我们将传统散剂改进为新型的外用巴布剂-舒儿腹贴, 提高了儿童用药的依从性。该巴布剂最核心的问题是如何将处方的有效物质最大限度地从药材中提取出来并透过皮肤产

生治疗作用, 因此药材提取工艺的优选就尤为重要。故本文以挥发油的提取量和君药胡椒中的胡椒碱含量为测评指标来优选最佳的工艺及相关参数是合理可行的。

经多批样品检测表明舒腹儿贴中胡椒碱的含量测定方法简单、准确, 重复性好, 能满足检测和工艺研究的需要。

[参考文献]

- [1] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 721.
- [2] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003. 37.
- [3] 林亚平. 药物研究常用数学方法及计算机程序[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1997. 126.