

综合评分法优选天宁滴丸提取工艺

洪清¹, 袁曦¹, 林功舟¹, 陈庆伟² (1.福建医科大学附属第一医院药学部, 福州 350005; 2.福州市药品检验所, 福州 350001)

摘要: 目的 优选天宁滴丸最佳提取工艺。方法 采用 L₉(3⁴)正交试验, 以天麻素、阿魏酸含量及浸膏得率的综合评分值为指标, 对乙醇浓度、乙醇用量、回流时间、提取次数等因素进行考察。结果 最佳提取工艺为加 10 倍量 70%乙醇, 回流 3 次, 每次 1 h。结论 该工艺合理, 为工业化生产提供了科学依据。

关键词: 天宁滴丸; 提取工艺; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)01-0027-03

Optimization of Extraction Technology for Tianning Drop Pill by Colligation Score

HONG Qing¹, YUAN Xi¹, LIN Gongzhou¹, CHEN Qingwei² (1. Department of Pharmacy of the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China; 2. Fuzhou Institute for Drug Control, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction technology of Tianning drop pill. **METHODS** The L₉(3⁴) orthogonal design was adopted in the study. Take the content of gastrodin and ferulic acid and yield of extract as index, to optimize the following factors in the extraction technology: ethanol concentration, amount of solvent, extraction time and extraction frequency. **RESULTS** The optimized condition was taken 70% ethanol as solvent, the best amount was 10 times of stuff solution, refluxed for three times and 1 hour for each time. **CONCLUSION** The optimized extraction technology is reasonable and provides scientific basis for industrialize process.

KEY WORDS: Tianning drop pill; extraction technology; orthogonal test

天宁滴丸由天麻、川芎等中药组成, 具有活血化瘀、解痉止痛等功效, 主治血管紧张性头痛。

本试验采用正交试验, 以主要成分天麻素、阿魏酸含量及浸膏得率的综合评分值为指标, 优选最

基金项目: 福建省卫生厅青年科学研究课题(2003-2-12)

作者简介: 洪清, 男, 副主任药师 Tel: (0591)87982078 E-mail: h7g12002@163.com

佳提取工艺。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

美国 Waters 高效液相色谱仪(包括 510 泵, 7725i 进样器, 996 二极管阵列检测器, Millennium32 数据处理系统); AE-240 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); R-201 旋转蒸发器(上海申胜生物技术有限公司); W-201B 数控恒温浴锅(上海申胜生物技术有限公司); 766-3 型远红外辐射干燥箱(上海阳光实验仪器有限公司)。

1.2 试剂

天麻素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110807-200205, 供含量测定用)、阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0773-9910, 供含量测定用); 天麻、川芎药材(购于福建同春药业股份有限公司中药分公司, 经福建中医学院药理学系卢伟副教授鉴定为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* BL 的干燥块茎, 伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎); 乙醇(福建省莆田市医药酒精有限公司, 批号 200603001); 甲醇(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司, 批号 20060309); 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计

参考文献[1-2], 并根据药材性质^[3]和生产实际要求^[4], 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。选取乙醇浓度(A)、乙醇用量(B)、回流时间(C)、提取次数(D)为考察因素, 每个因素选择 3 个水平, 见表 1。

表 1 因素水平表

Tab 1 Factors and levels

| 水平因素 | A 乙醇 浓度/% | B 乙醇 用量/倍 | C 提取 时间/h | D 提取 次数 |
|------|--------------|--------------|--------------|------------|
| 1 | 70 | 10 | 1.0 | 2 |
| 2 | 80 | 8 | 1.5 | 3 |
| 3 | 90 | 6 | 2.0 | 4 |

2.2 样品提取

取天麻、川芎分别粉碎成细粉, 过筛, 按处方比例混合, 按试验序号各条件分别加热回流提取一定时间, 趁热过滤, 合并提取液, 回收乙醇, 滤液定容至 1 000 mL 量瓶中, 备用。

2.3 浸膏得率的测定

精密量取样品液 100 mL, 置 105 °C 干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 置干燥箱 105 °C 干燥 3 h, 于干燥器内冷却 30 min, 精密称定, 计算浸膏得率。结果见表 2。

2.4 含量测定

2.4.1 对照品储备液的制备 取天麻素对照品 10 mg、阿魏酸对照品 5 mg, 精密称定, 置同一 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配成对照品储备液。

2.4.2 色谱条件 色谱柱: spherisorb-ODS C_{18} 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 0.1%磷酸溶液(A), 0.1%磷酸甲醇(B); 梯度洗脱, 0~10 min, A: 97%~93%; 10~20 min, A: 93%~50%; 20~30 min, A: 50%; 检测波长: 221 nm; 柱温: 30 °C。在此条件下, 天麻素、阿魏酸保留时间分别为 5.4, 22.0 min; 理论板数分别为 1 031, 16 831, 分离度 >2.0。色谱图见图 1。

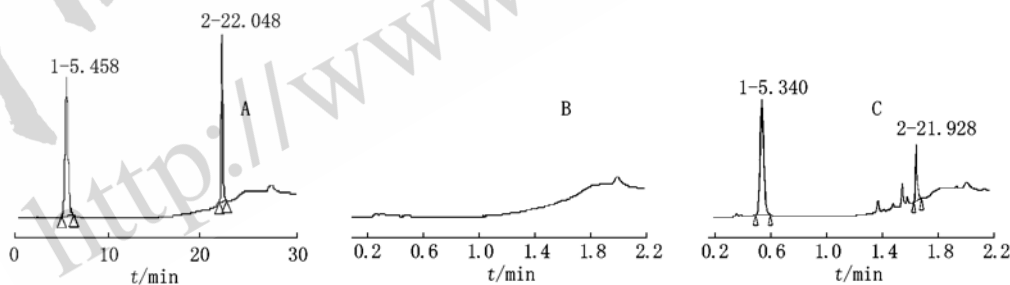


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-阴性样品; C-供试品; 1-天麻素; 2-阿魏酸

Fig 1 HPLC chromatogram

A-reference substance; B-negative sample; C-sample; 1-gastrodin; 2-ferulic acid

2.4.3 线性试验 精密量取对照品储备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 取上清液适量, 10 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 精密吸取 20 μ L 进样分析, 以浓度(C)对峰面积(A)进行回归分析, 得回归方程:

天麻素 $C = 0.8179A + 0.2920$, $r = 0.9992$, 阿魏酸 $C = 1.6320A + 0.1280$, $r = 0.9996$; 结果表明: 天麻素在 0.0118~0.118 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 阿魏酸在 0.0048~0.048 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.4.4 供试品溶液的测定 取浸膏 0.1 g, 精密称

定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 30 min 使溶解, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 10 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 精密吸取上清液 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算, 并进行综合评分 (Comprehensive Score)。先将各指标进行规格化^[5]。

表 2 L₉(3⁴) 正交试验表及结果

Tab 2 L₉(3⁴) arrangement and the results of orthogonal tests

| 序号 | A | B | C | D | 天麻素含量 /mg·g ⁻¹ | 阿魏酸含量 /mg·g ⁻¹ | 浸膏得率/% | 综合评分 |
|----|--------|--------|-------|-------|---------------------------|---------------------------|--------|-------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 8.79 | 3.85 | 13.68 | 70.51 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 10.05 | 4.47 | 12.48 | 75.21 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 8.17 | 3.53 | 13.39 | 63.54 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 8.61 | 3.76 | 12.75 | 64.88 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 7.60 | 3.34 | 9.31 | 36.91 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 8.14 | 3.62 | 12.20 | 59.21 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 7.06 | 3.08 | 11.83 | 48.12 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 6.00 | 2.64 | 9.46 | 28.29 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 3.34 | 1.52 | 11.81 | 4.90 |
| K1 | 209.26 | 183.51 | 158 | 112.3 | | | | |
| K2 | 161.0 | 140.41 | 145 | 182.5 | | | | |
| K3 | 81.31 | 127.65 | 148.6 | 156.7 | | | | |
| r | 42.65 | 18.62 | 4.34 | 23.41 | | | | |

表 3 方差分析表

Tab 3 Analysis of variance

| 方差来源 | 离差平方和 | 自由度 | 方差 | F 值 | P 值 |
|------|----------|-----|-------|-------|-------|
| A | 2 783.32 | 2 | 1 392 | 92.33 | 0.011 |
| B | 571.18 | 2 | 285.6 | 18.95 | 0.050 |
| C | 30.15 | 2 | 15.07 | 1 | 0.50 |
| D | 841.04 | 2 | 420.5 | 27.90 | 0.035 |

注: $F_{0.05}(2, 2)=19$, $F_{0.01}(2, 2)=99$

Note: $F_{0.05}(2, 2)=19$, $F_{0.01}(2, 2)=99$

从表 2 直观分析、表 3 方差分析可知, 影响提取效果的因素顺序为 A>D>B>C, 乙醇浓度、乙醇用量、提取次数对提取影响有显著差异, 因此确定最佳提取工艺为 70%乙醇, 10 倍用量, 提取 3 次, 每次 1 h。

2.5 工艺验证试验

分别称取 3 批药材以优选的工艺提取, 按“2.3”和“2.4.4”项下方法测定。结果天麻素、阿魏酸含量分别为 9.98, 4.45 mg·g⁻¹, RSD 为 1.63%, 1.91%, 浸膏得率为 11.78%, RSD 为 1.25% ($n=3$), 表明此工艺稳定可靠。

3 讨论

本试验在优选提取工艺时, 以天麻素和阿魏酸含量、浸膏得率为综合评分指标。浸膏得率对药效及制剂工艺有一定的影响, 但并不能完全反映有效成分提取情况, 故同时选择处方中所含主要成分作为评价指标。为使各因素水平的贡献具有均等的机会, 采用综合评分法对结果进行量化, 从而可以方便地将不同性质的指标转变成类型相

同的数值, 再将这数值加权计算, 得到综合评分, 使数据计算和结果分析更加简便客观。

本试验运用梯度洗脱法, 能较好地分离多个物质, 一次进样在 30 min 内同时测定天麻素和阿魏酸的含量, 分离效果好, 可靠性高。将对照品、样品及空白样品制成适当浓度的溶液, 在波长 200~400 nm 扫描, 根据紫外光谱图, 天麻素最大吸收在 221 nm 处, 阿魏酸最大吸收在 321 nm 处, 选 221 nm 为检测波长, 对阿魏酸的检测同样灵敏, 符合要求。

di=(Y_i-Y_{min})/(Y_{max}-Y_{min}), 其中 Y_{max} 和 Y_{min} 分别为各指标可被接受的最大值和最小值。根据试验目的和试验结果, 选定 3 个指标的最大值和最小值。再由下式计算综合评分=(d₁d₂d₃)^{1/3}×100, 结果见表 2, 3。

同的数值, 再将这数值加权计算, 得到综合评分, 使数据计算和结果分析更加简便客观。

本试验运用梯度洗脱法, 能较好地分离多个物质, 一次进样在 30 min 内同时测定天麻素和阿魏酸的含量, 分离效果好, 可靠性高。将对照品、样品及空白样品制成适当浓度的溶液, 在波长 200~400 nm 扫描, 根据紫外光谱图, 天麻素最大吸收在 221 nm 处, 阿魏酸最大吸收在 321 nm 处, 选 221 nm 为检测波长, 对阿魏酸的检测同样灵敏, 符合要求。

REFERENCES

- [1] XIE X D, ZHENG P, YANG M H, et al. Determination of gastrodin and preparations of gastrodin by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2001, 32(6): 513-515.
- [2] LIU X, YANG X M, XU J P, et al. Studies on process for extraction of *Ligusticum chuanxiong* Hort. by orthogonal experiments [J]. Guangdong Pharm J (广东药学), 2003, 13(6): 325-326.
- [3] YIN J. Contemporary Study and Clinical Application of Chinese Materia Medicine (中药现代研究与临床应用) [M]. Vol 1. Beijing: Academy Press, 1994: 108.
- [4] WU Q, LI Y G, DU S Y. Study on extraction process of angelica sinensis and *Ligusticum chuanxiong* Hort. [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 1999, 5(6): 17-18.
- [5] ABULZZA K A, CONTRERAS LG, LU D R. Preparation and evaluation of sustained release AZT-loaded microspheres: optimization of the release characteristics using response surface methodology [J]. J Pharm Sci, 1996, 85(2): 144-149.

收稿日期: 2009-08-17