

正交分割试验优选精乌胶囊中何首乌游离蒽醌提取工艺

★ 杨长福 (贵阳中医学院基础部 贵阳 550002)

★ 林亚平* (贵州省食品药品监督管理局 贵阳 550004)

摘要:目的:优化精乌胶囊中的何首乌提取工艺。方法:以游离蒽醌成分和浸膏得率为综合指标,分两道工序采用正交分割试验优化何首乌提取工艺,工序Ⅰ加醇提取总蒽醌、工序Ⅱ加硫酸-氯仿提取游离蒽醌,均考察提取溶媒用量、提取次数、提取时间等因素。结果:优选的提取工艺条件重复性好、结果科学合理。结论:通过正交分割试验优化的何首乌提取方法简单、可行。

关键词:何首乌;正交分割法;正交设计法;提取工艺

中图分类号:R 284.2 **文献标识码:**A

精乌胶囊是在黄精首乌量效组合研究的基础上组方的中药有效部位制剂,实验研究表明方中有效部位多糖、游离蒽醌有较好的抗高血脂、抗脂质过氧化的作用^[1,2],为寻求最佳工艺条件,研制出适合现代临床应用的“三效、三小”制剂,笔者尝试用正交试验设计中的分割法对何首乌中的游离蒽醌部位进行实验研究,通过方差分析和综合平衡,确定提取工艺参数,结果满意。

1 材料和仪器

何首乌(贵州省药材公司提供);甲醇、三氯甲烷(AR);医用酒精(化学纯);大黄素(中国药品生物制品检定所)。贝克曼 DU70 紫外-可见分光光度计(美国贝克曼)。

2 方法与结果

2.1 考察指标选择 游离蒽醌含量以大黄素为对

照,采用分光光度法测定;浸膏得率以单位药材经提取纯化后的干浸膏总量为考察依据。

2.2 考察因素水平设置 用正交分割试验对精乌胶囊中何首乌的蒽醌部分提取工艺进行优选,以浸膏收率和游离蒽醌含量为考察指标,将提取工艺中提取蒽醌类成分的试验分成两道工序:工序Ⅰ加醇提取总蒽醌;工序Ⅱ加混合溶剂提取游离蒽醌。

在工序Ⅰ加醇提取总蒽醌中,选择加醇量、提取次数、提取时间为考察因素;工序Ⅱ加混合溶剂(硫酸-氯仿)提取游离蒽醌中,选择混合溶剂用量、提取次数、提取时间为考察因素,混合溶剂用量与提取时间采用相对水平,即固定混合溶剂的总用量和固定加混合溶剂提取的总时间,遇到提取次数不同时,混合溶剂用量与提取时间亦随之变化。因素水平设置见表 1。

表 1 考察因素水平设置表

水平	工序Ⅰ考察因素			工序Ⅱ考察因素		
	加醇量 A	提取次数 B	时间 C	加混合溶剂量 D	提取次数 E	提取时间 F
1	3 倍	3 次	1h	150ml 提取 3 次:50,50,50ml 提取 4 次:75,25,25,25ml	3 次	2h 提取 3 次:60,30,30min 提取 4 次:30,30,30,30min
2	4 倍	4 次	2h	250ml 提取 3 次:150,50,50ml 提取 4 次:100,50,50,50ml	4 次	3h 提取 3 次:90,45,45min 提取 4 次:90,30,30,30min

2.3 试验安排及试验结果 选用 $L_8(2^7)$ 表进行试验^[3],在工序Ⅰ中将试验安排中的试验号 1 与 2,3 与 4,5 与 6,7 与 8 的试验进行合并,将药材投料量放大一倍,待提取液减压干燥后,将其分成 2 份,再按工序Ⅱ加混合溶剂提取游离蒽醌的各项试验进行提取。

试验安排和结果见表 2,方差分析见表 3。

在研究中期望优选出的工艺满足获得的浸膏量最少,游离蒽醌的含量最高的条件。试验结果经直观分析和方差分析(游离蒽醌含量,见表 3)可知:B 提取次数对试验结果影响最显著。进一步用综合平衡法(期望浸膏量越小越好,游离蒽醌含量越高越

* 通讯作者:林亚平, Tel:13608536440, E-mail:lypgz@126.com

好)对测评指标——浸膏得率和游离蒽醌含量进行全面分析,得到何首乌优选的提取工艺: $A_1B_2C_2D_1E_1F_1$,即每 150 g 药材,每次加醇 450 ml,提取 2h,共提取 4 次,回收乙醇使成浸膏;所得浸膏加混合溶剂 150 ml(50,50,50 ml),提取 3 次,共提

取 2h(60,30,30 min)。

2.4 验证试验 称取何首乌药材 150 g,照上述优化的条件进行重复验证试验($n=3$),结果浸膏量为 (463.43 ± 18.12) mg,游离蒽醌量为 (78.60 ± 3.20) mg,可知优选的工艺条件基本满足试验需要。

表 2 正交试验安排及结果

试验号	工序 I 考察因素			工序 II 考察因素			空白列	测评指标	
	A	B	C	D	E	F		浸膏量/mg	游离蒽醌含量/mg
1	1	1	1	1	1	1	1	593.9	49.2
2	1	1	1	2	2	2	2	515.8	79.3
3	1	2	2	1	1	2	2	767.2	57.7
4	1	2	2	2	2	1	1	556.1	52.6
5	2	1	2	1	2	1	2	420.3	64
6	2	1	2	2	1	2	1	672.6	78.2
7	2	2	1	1	2	2	1	1321	6.9
8	2	2	1	2	1	1	2	902	12.6
浸膏量	I j	2433	2202.4	3332.8	3102.4	2935.6	2472.4	3143.6	
	II j	3315.9	3546.4	2416	2646.4	2813.2	3276.8	2605.2	
	R	882.9	1344	916.8	456	122.4	804.4	538.4	
蒽醌含量	I j	238.8	270.8	148	177.6	197.6	178.4	186.8	
	II j	161.7	129.6	252.4	222.8	202.8	222	213.6	
	R	77.1	141.2	104.4	45.2	5.2	43.6	26.8	

注:工序 I 中,合并的试验号药材用量为 300 g。

表 3 正交试验方差分析表(游离蒽醌含量)

来源	离均差平方和	自由度	平均方差	F 值	P 值
A 加醇量	743	1	743	16.1	0.0569
B 提取次数	2481.6	1	2481.6	53.7	0.0181
C 提取时间	1365	1	1365	29.6	0.0322
D 混合溶剂用量	252	1	252	5.5	0.1446
E 提取次数	3.3	1	3.3	0.1	
F 提取时间	238.7	1	238.7	5.2	0.1509
G	89.1	1	89.1	1.9	
合并误差	92.4	2	46	1	

3 讨论

药物研究中,对目标发生作用的因素是多方面的,而对多因素多水平的试验研究,研究者期望以较少的试验次数获得尽可能多的信息,进而寻求最佳因素组合。本研究中选用了正交试验设计中的分割法对精乌胶囊中的何首乌进行提取工艺优选,是由于在提取游离蒽醌有效部位时,试验周期较长,且经历两个不同的工序:醇提与混合溶剂提取,且各工序又只包括部分考察因素,本研究尝试用低次因子的水平连续出现的特点,把它们在同一工序的相同水平组合合并,将所得的半成品分成两份再进入下一工序的试验,使其在保持正交试验设计均衡搭配、综合比较的特点的同时,又使试验次数相应的减少。试验研究结果表明:所得到的实验数据重现性好,结论可靠性高。

本研究用活动水平的正交设计安排试验,是由于在该工序中的各因素是连续的、相互依赖的统一体。如本研究中工序 II 中的提取次数是与溶剂用量

和提取时间密切联系的,并随提取次数的变化溶剂用量和提取时间亦相应的发生变化。通过相对水平的试验设计,弥补固定水平难以进行有效正交设计的不足,确保以较少的试验次数获得足够的样本信息。

在中药制剂成型过程中,常常因为大量的中间产物,如浸膏,限制了药物剂型的选择,给用药带来了不便。在本研究中采用部位活动水平的正交设计优选出的何首乌提取工艺满足了有效成分含量高,浸膏量较少的实验预期。进一步分析发现,在本研究中提取的何首乌浸膏量越多,以大黄素计的蒽醌含量就越低。可见在药物提取精制的过程中,提取精制的方法选择得当与否,是保障药物制剂满足“三效、三小、五方便”的关键。

致谢:本研究所用的药材为贵州省药材公司吴冰老师提供,在此,笔者表示衷心的感谢!

参考文献

- [1]王和生,林亚平,齐敏友,等.黄精首乌有效部分均匀设计组合对高脂血症大鼠抗脂质过氧化的影响[J].中华中医药杂志(原中国医药学报),2005,20(8):502~504
- [2]彭小冰,林亚平,王和生,等.黄精首乌有效部分均匀设计组合对高脂血症大鼠抗氧化能力的影响[J].辽宁中医杂志,2005,32(5):468~469
- [3]北京大学数学力学系概率统计组编.正交设计法[M].北京石油化学工业出版社,1976.72~76

(收稿日期:2007-06-22)