

药效学结合正交试验优选蛇归止痒方的提取工艺^Δ

张周菊*,张悦,彭翠香,孔菲菲,高佩,梁璐(湖北省医药工业研究院有限公司,武汉 430065)

中图分类号 R285.5;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)19-2662-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.19.16

摘要 目的:优化蛇归止痒方提取工艺。方法:以小鼠止痒药效实验相关结果为指标筛选蛇归止痒方的提取工艺路线(包括醇提、水提等4种工艺),再以收膏率及阿魏酸、芍药苷、苦参碱、氧化苦参碱含量等组成的综合评分为考察指标,采用L₉(3⁴)正交试验筛选乙醇体积分数、加醇量倍数、提取时间(次数)等提取工艺的最优参数,并进行工艺验证试验。结果:筛选的提取工艺路线为全方采用60%乙醇回流提取;最优工艺中各参数具体为提取2次,第1次加8倍乙醇提取2h,第2次加8倍乙醇提取1h。验证试验结果显示,3次试验阿魏酸、芍药苷、苦参碱、氧化苦参碱的平均含量分别为0.71、22.13、1.92、9.88 mg/g(RSD=2.96%、2.03%、2.55%、1.23%,n=3),平均收膏率为19.22%(RSD=0.96%,n=3)。结论:优选的提取工艺稳定、可行。

关键词 蛇归止痒方;提取工艺;正交试验;优化;止痒药效实验;小鼠

Optimization of the Extraction Technology of Shegui Zhiyang Formula by Pharmacodynamics Combined with Orthogonal Test

ZHANG Zhouju, ZHANG Yue, PENG Cuixiang, KONG Feifei, GAO Pei, LIANG Lu (Hubei Pharmaceutical Industry Research Institute Co., Ltd., Wuhan 430065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Shegui zhiyang formula. METHODS: The extraction technology route (4 technologies such as ethanol extraction, water extraction, etc.) of Shegui zhiyang formula in mice was screened by using related indexes of antipruritic efficacy test. Using comprehensive score of extract yield, the contents of ferulic acid, paeoniflorin, matrine and oxymatrine as indexes, L₉(3⁴) orthogonal test was used to screen optimal parameters of extraction technology as volume fraction of ethanol, ethanol fold, extraction time (times). Validation test was conducted. RESULTS: Screened extraction technology route was medicinal materials were reflux extracted with 60% ethanol. The optimal technology included extracting for 2 times, lasting for 2 h with 8-fold ethanol at first time, lasting for 1 h with 8-fold ethanol at second time. The results of validation tests showed that average contents of ferulic acid, paeoniflorin, matrine and oxymatrine were 0.71, 22.13, 1.92, 9.88 mg/g (RSD=2.96%, 2.03%, 2.55%, 1.23%, n=3). Average extract yield was 19.22% (RSD=0.96%, n=3). CONCLUSIONS: The optimized extraction process is stable and feasible.

KEYWORDS Shegui zhiyang formula; Extraction technology; Orthogonal test; Optimization; Antipruritic efficacy test; Mice

中医认为中老年性皮肤瘙痒症多为血虚肝旺以致生风生燥、肌肤失养而成^[1]。蛇归止痒方由乌梢蛇、当归、赤芍、苦参等6味中药组成,该方由名老中医陈如泉教授(湖北中医药大学教授、中医内科专家)根据中老年人皮肤瘙痒症病机、前人临床实践及自己多年行医心得,在经典古方“当归饮子”基础上化裁而成。方中当归、赤芍两药养血活血^[2]、凉血祛瘀^[3],为方中之君药,该方经多年临床验证适用于血虚风燥、肝肾阴虚型的中老年皮肤瘙痒症^[4-6]。

蛇归止痒方临床使用方法为煎汤服用,但汤剂煎煮麻烦,且服用量大、不易保存、不便于携带,故本团队拟将该方研制成中药复方颗粒剂。为确定合理的提取工艺,保证制剂的质量和疗效,本研究参考文献[7-12],设计了多条提取工艺路线,并将各路线得到的提取物参考文献[13-14]进行小鼠止痒药效实验,以筛选出能保证药

效的提取工艺;再在此基础上采用正交试验设计法,以收膏率及阿魏酸(当归中主成分)、芍药苷(赤芍中主成分)、苦参碱和氧化苦参碱(苦参中主成分)的含量等组成的综合评分为考察指标^[15],优化提取工艺参数,以此为其进一步制成颗粒奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

Ab265S 十万分之一电子天平、AL204 万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);AT20 高效液相色谱仪(日本岛津公司);DL-360B 超声波清洗器(上海之信仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

乌梢蛇(批号:140901)、苦参(批号:140101)、当归(批号:1506863)、赤芍(批号:1506835)等药材均购自湖北格林药业有限公司,上述药材经检验,其质量均符合2015年版《中国药典》(一部)各药材项下有关规定;阿魏酸(批号:110773-201313,纯度:99.6%)、芍药苷(批号:110736-201438,纯度:96.4%)、苦参碱(批号:110805-

^Δ 基金项目:湖北省科技发展专项项目(No.2016-205-009-001)

* 工程师。研究方向:中药新药及质量标准。电话:027-88849963。

E-mail:459334634@qq.com

200508,纯度:99.9%)、氧化苦参碱(批号:110780-2001007,纯度:92.5%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;右旋糖酐40葡萄糖注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号:T15082204,规格:500 mL/瓶,含30 g右旋糖酐40与25 g葡萄糖);盐酸苯海拉明片(临汾宝珠制药有限公司,批号:20151005,规格:25 mg/片);乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯,水为超纯水,其余试剂为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

SPF级KM小鼠,4~6周龄,体质量18~22 g;由湖北省实验动物研究中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2015-0018。

2 方法与结果

2.1 提取工艺路线的初筛

2.1.1 提取工艺的设计与提取物制备 本研究在提取工艺参数筛选前进行了药材提取工艺路线的初筛。文献资料报道本方药材提取主要有水煎煮提取和乙醇提取方法^[7-12],在此基础上,本研究工艺初筛设计了4条工艺路线。(1)工艺I:全方药材水煎煮提取;(2)工艺II:方中苦参、赤芍等药材水煎煮提取,另将乌梢蛇、当归采用60%乙醇回流提取;(3)工艺III:乌梢蛇、当归、苦参、赤芍采用60%乙醇回流提取,其余药材水煎煮提取;(4)工艺IV:全方药材60%乙醇回流提取。提取后分别得到提取物浓溶液I、II、III、IV,均含1 g/mL(以生药计,下同)。

2.1.2 止痒药效实验方法 止痒药效模型为:静脉注射右旋糖酐40诱发小鼠皮肤瘙痒模型^[9-18]。取小鼠分为以下7组:阴性对照组、不同工艺提取物组和阳性对照药低、高剂量组,每组11只。不同工艺提取物组:小鼠灌胃给药量均为18 mL/kg(人日服用量为1 g/kg,以临床2倍剂量给药,折算成小鼠给药量为18 g/kg^[19-20],即小鼠给药量为18 mL/kg)。阳性药对照组:盐酸苯海拉明片^[13]用水制成低、高剂量(0.625、1.25 mg/mL)溶液,以灌胃给药量18 mL/kg计,低剂量组给药量为11.25 mg/kg(相当于人临床剂量),高剂量组给药量为22.5 mg/kg(相当于人临床剂量的2倍)。阴性对照组:给予同体积蒸馏水(18 mL/kg)。以上各组小鼠均每天给药1次,连续7 d。末次给药后1 h,小鼠尾静脉注射右旋糖酐40(1.25 mg/kg)。以小鼠前爪搔抓头部、后爪搔抓躯干、嘴咬全身各部位作为瘙痒指征。录像仪观察记录,以搔抓潜伏期(注射右旋糖酐40结束至第1次搔抓开始的时间)及注射右旋糖酐40结束后30 min内小鼠搔抓次数作为止痒效果的评价指标。若30 min内未出现搔抓指征的动物,搔抓次数按0次计,搔抓潜伏期按1 800 s计。各组抓搔小鼠只数的比较采用SPSS 19.0行 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2.1.3 止痒药效实验结果 阴性对照组小鼠均出现搔抓,表明造模成功。各给药组小鼠搔抓指标检测结果见表1。

由表1结果表明,与阴性对照组比较,工艺III提取物组与工艺IV提取物组发生搔抓小鼠的只数更少,二者比

表1 各组小鼠搔抓指标检测结果($\bar{x} \pm s, n=11$)

Tab 1 The results of mice scratching indexes in each group($\bar{x} \pm s, n=11$)

组别	发生搔抓,只	搔抓潜伏期,s	搔抓次数
阴性对照组	11	190.9±139.9	38.0±8.2
工艺I提取物组	6	888.4±207.5*	5.7±3.4***
工艺II提取物组	8	745.3±157.4*	8.4±6.0***
工艺III提取物组	4**	985.2±658.2*	5.7±10.5***
工艺IV提取物组	4**	1 522.1±565.4***	1.3±2.5***
阳性对照药低剂量组	7	793.7±475.5*	17.3±7.0***
阳性对照药高剂量组	6	595.6±198.4*	6.3±2.6***

注:与阴性对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

Note: vs. negative control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

较差异有统计学意义($P<0.01$),工艺IV提取物组小鼠搔抓潜伏期延长,搔抓次数减少,差异均有统计学意义($P<0.001$),即工艺IV所得提取物对右旋糖酐40诱发的小鼠全身瘙痒的止痒效果优于其他工艺所得提取物。故本研究确定本方的提取工艺为工艺IV,即全方以60%乙醇回流提取。

2.2 阿魏酸含量测定

参考文献^[15]方法进行测定。

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.2%磷酸溶液(17:83,V/V);检测波长:316 nm;柱温:35℃;进样量:10 μL。取“2.2.2”~“2.2.4”项下对照品、供试品和缺当归阴性样品溶液进样分析,理论板数按阿魏酸峰计应不低于5 000。系统适用性试验色谱见图1。

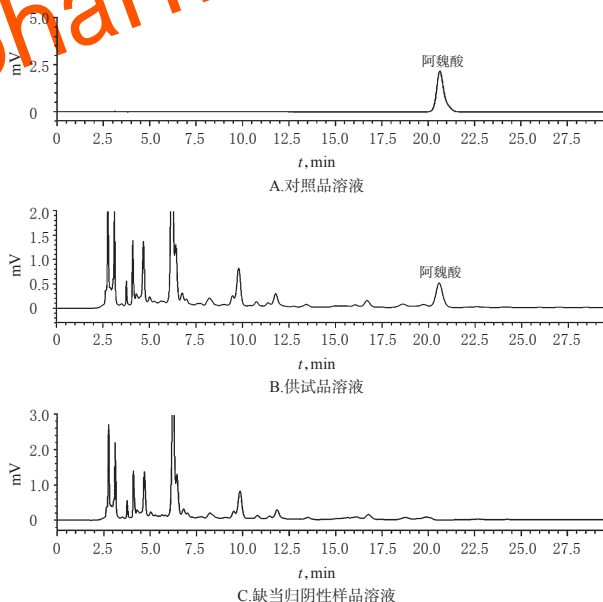


图1 阿魏酸高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of ferulic acid

2.2.2 对照品溶液的制备 取阿魏酸对照品适量,精密称定,置于棕色量瓶中,加70%甲醇制成每mL含阿魏酸12 μg的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取提取物(工艺IV)干燥后所得浸膏粉0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加

入70%甲醇20 mL, 密塞, 称定质量, 超声(240 W, 50 kHz)提取20 min, 70%甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 静置; 取上清液滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 缺当归阴性样品溶液的制备 取缺当归的蛇归止痒方, 全方按工艺IV以60%乙醇回流提取, 得阴性样品, 按“2.2.3”项下操作方法制得缺当归阴性样品溶液。

2.2.5 线性范围考察 取阿魏酸对照品适量, 精密称定, 置于棕色量瓶中, 加70%甲醇制成质量浓度为0.12 mg/mL的对照品贮备液。分别精密吸取对照品贮备液0.1、0.5、1、1.5、2 mL, 置于10 mL棕色量瓶中, 得质量浓度分别为1.25、6.23、12.46、18.69、24.92 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归, 得阿魏酸回归方程为 $y=46\ 134x+48\ 544$ ($r=0.999\ 6$), 表明阿魏酸检测质量浓度线性范围为1.25~24.92 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.6 精密度、重复性、稳定性和加样回收试验 按相关方法进行试验。结果, 精密度试验中峰面积的RSD为0.15% ($n=6$), 重复性试验中峰面积的RSD为1.23% ($n=6$), 稳定性试验中供试品溶液放置24 h内含量的RSD为1.59% ($n=6$), 平均加样回收率为101.21% ($RSD=1.36\%, n=6$), 均符合相关要求。

2.3 芍药苷含量测定

参考文献[15]方法测定。

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Diamondsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(40:65, V/V); 柱温: 室温; 检测波长: 230 nm。进样量: 10 μL 。取“2.3.2”~“2.3.4”项下对照品、供试品和缺赤芍阴性样品溶液, 进样分析, 理论板数按芍药苷峰计应不低于3 000。系统适用性试验色谱见图2。

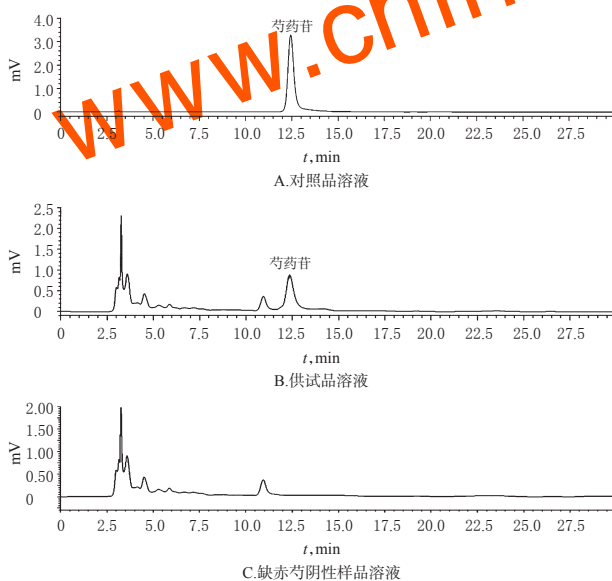


图2 芍药苷高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of paeoniflorin

2.3.2 对照品溶液的制备 取经五氧化二磷减压干燥36 h的芍药苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每mL

含芍药苷0.5 mg的溶液, 即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取提取物(工艺IV)干浸膏粉1.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇25 mL, 称定质量, 超声处理20 min, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.4 缺赤芍阴性样品溶液的制备 取缺赤芍的蛇归止痒方, 全方按工艺IV以60%乙醇回流提取, 得阴性样品, 按“2.3.3”项下操作方法制得缺赤芍阴性样品溶液。

2.3.5 线性范围考察 取芍药苷对照品适量, 精密称定, 置于量瓶中, 加甲醇制成质量浓度为5 mg/mL的对照品贮备液。分别精密吸取贮备液0.1、0.5、1、1.5、2 mL, 置于10 mL量瓶中, 制备成质量浓度分别为54.1、270.5、541.0、811.5、1 082.0 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归, 得芍药苷线性回归方程为 $y=16\ 552x-68\ 719$ ($r=0.999\ 6$), 表明芍药苷检测质量浓度线性范围为54.1~1 082.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.6 精密度、重复性、稳定性和加样回收试验 按相关方法进行试验。结果, 精密度试验中芍药苷峰面积的RSD为0.20% ($n=6$), 重复性试验中峰面积的RSD为1.33% ($n=6$), 稳定性试验中供试品溶液放置24 h内含量的RSD为1.99% ($n=6$), 平均加样回收率为98.91% ($RSD=1.95\%, n=6$), 均符合相关要求。

2.4 苦参碱及氧化苦参碱的含量测定

按参考文献[9]方法测定。

2.4.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: GP-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10, V/V/V); 检测波长: 220 nm; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL 。取“2.4.2”~“2.4.4”项下对照品、供试品和缺苦参阴性样品溶液, 进样分析, 理论板数按氧化苦参碱峰计应不低于2 000。系统适用性试验色谱见图3。

2.4.2 对照品溶液的制备 取苦参碱对照品、氧化苦参碱对照品适量, 精密称定, 加乙腈-无水乙醇(80:20, V/V)混合溶液分别制成每mL含苦参碱50 μg 、氧化苦参碱0.15 mg的溶液, 即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 取提取物(工艺IV)干浸膏粉末约2.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加浓氨试液0.5 mL, 精密加入三氯甲烷20 mL, 密塞, 称定质量, 超声(功率: 250 W, 频率: 33 kHz)处理30 min, 放冷, 再称定质量, 用三氯甲烷补足缺失的质量, 摇匀, 滤过; 精密量取续滤液5 mL, 加在中性氧化铝柱(100~200目5 g, 内径1 cm)中, 依次以三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇(7:3, V/V)混合溶液各20 mL洗脱, 合并收集洗脱液, 回收溶剂; 残渣加无水乙醇适量使溶解, 转移至10 mL量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4.4 缺苦参阴性样品溶液的制备 取缺苦参的蛇归止痒方, 全方按工艺IV以60%乙醇回流提取, 得阴性样品, 按“2.4.3”项下操作方法制得缺苦参阴性样品溶液。

2.4.5 线性范围与定量限考察 取苦参碱和氧化苦参

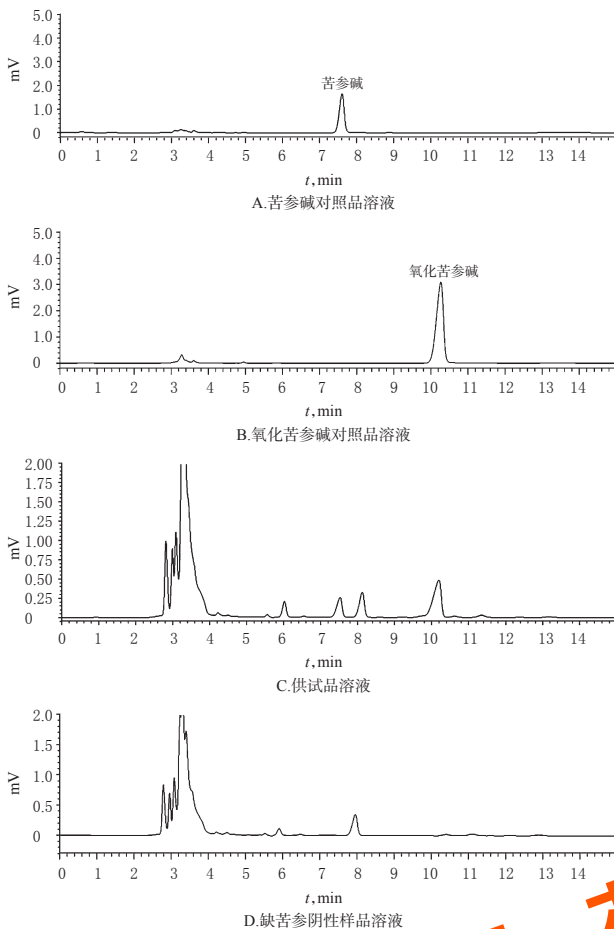


图3 苦参碱与氧化苦参碱高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of matrine and oxymatrine

碱对照品适量,精密称定,分别置于量瓶中,加乙腈-无水乙醇(80:20, V/V)混合溶液制成质量浓度为0.5、1.5 mg/mL的苦参碱和氧化苦参碱对照品贮备液。分别精密吸取苦参碱对照品贮备液0.1、0.5、1、1.5、2 mL,置于10 mL量瓶中,制成质量浓度为5.0、24.9、49.8、74.7、99.6 μg/mL的苦参碱对照品溶液;同法制备质量浓度为15.4、77.2、154.3、231.5、308.6 μg/mL的氧化苦参碱对照品溶液,进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得苦参碱和氧化苦参碱的回归方程分别为 $y=5\ 799x+4\ 843.1(r=0.999\ 1)$ 、 $y=6\ 685.8x-25\ 325(r=0.999\ 4)$,表明苦参碱和氧化苦参碱检测质量浓度线性范围分别为5.0~99.6、15.4~308.6 μg/mL。

按相关方法操作,苦参碱与氧化苦参碱定量限分别为4.99、10.26 ng。

2.4.6 精密度、重复性、稳定性和加样回收试验 按相关方法进行试验。结果,精密度试验中苦参碱、氧化苦参碱峰面积的RSD分别为0.99%、0.19% ($n=6$),重复性试验中峰面积的RSD分别为1.55%、1.15% ($n=6$);稳定性试验中供试品溶液放置24 h内含量的RSD分别为1.44%、0.65% ($n=6$),平均加样回收率分别为99.90%、98.33% (RSD分别为1.85%、1.71%, $n=6$),均

符合相关要求。

2.5 正交试验优选乙醇提取工艺

2.5.1 药材吸液量考察 称取乌梢蛇、赤芍、当归、苦参等6味药材共120 g,加500 mL的60%乙醇,浸泡过夜,滤过,得滤液,量得滤液体积。计算吸液量[吸液量=(500-滤液体积)/药材质量]。重复3次试验。结果药材吸液量为1倍(1 mL/g)。根据此试验结果,药材提取时先加入1倍(1 mL/g)溶剂补足药材吸液量,再加第1次提取用的溶剂。

2.5.2 正交试验方法与结果 按处方比例称取药材9份,每份300 g,选择乙醇体积分数(A,%)、加醇量(B,倍)、回流提取时间及次数(C,h)作为考察因素^[21-22],按照 $L_9(3^3)$ 正交试验分别进行提取,得提取液分别减压浓缩至干膏,计算收膏率(干膏量/投料量×100%)。以芍药苷、阿魏酸、苦参碱、氧化苦参碱含量及收膏率组成的综合评分[综合评分=(阿魏酸含量×0.15/阿魏酸含量最大值+芍药苷含量×0.15/芍药苷含量最大值+苦参碱含量×0.1/苦参碱含量最大值+氧化苦参碱含量×0.1/氧化苦参碱含量最大值+收膏率×0.5/收膏率最大值)×100]为考察指标,优选工艺参数。因素与水平见表2,正交试验设计与结果见表3,方差分析结果见表4。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A(乙醇体积分数),%	B(加醇量)倍	C(提取时间,次数),h
1	50	2(12.6+6.4+4+4)	2h(2h,1次)
2	60	14(14.7+7.5+5+4)	3h(2,1h,2次)
3	70	16(16.8+8.6+5+5)	4h(2,1,1h,3次)

注:括号中加醇量倍数和提取时间分别为提取1次、2次、3次时对应的加醇量和提取时间

Note: ethanol fold and extraction time in the brackets were corresponding ethanol amount and extraction time for 1, 2 and 3 times

表3 试验设计与结果

Tab 3 Trial design and results

试验号	因素				结果					
	A(乙醇体积分数),%	B(加醇量)倍	C(提取时间,次数),h	D(空白)	阿魏酸含量,mg/g	芍药苷含量,mg/g	苦参碱含量,mg/g	氧化苦参碱含量,mg/g	收膏率,%	综合评分
1	1	1	1	1	0.72	22.49	1.21	6.44	18.32	79.40
2	1	2	2	2	0.65	21.60	3.26	7.59	21.61	92.14
3	1	3	3	3	0.61	21.54	2.38	7.99	22.66	91.34
4	2	1	2	3	0.70	21.95	2.39	10.04	20.72	91.15
5	2	2	3	1	0.68	19.37	1.27	8.50	21.71	86.27
6	2	3	1	2	0.77	22.76	1.62	9.86	20.33	89.65
7	3	1	3	2	0.70	11.38	0.85	6.52	18.34	70.71
8	3	2	1	3	0.72	23.33	1.04	7.30	16.91	77.18
9	3	3	2	1	0.68	21.30	1.01	6.26	18.15	76.66
均值1	87.627	80.420	82.077	80.777						
均值2	89.023	85.197	86.650	84.167						
均值3	74.850	85.883	82.773	86.557						
极差	14.173	5.463	4.573	5.780						

由表3、表4可知,各因素对综合评分的影响大小依次为A>B>C,最优工艺为 $A_2B_3C_2$:即加入16倍量的60%乙醇提取2次,每次8倍量,提取时间分别为2、1 h。在实际提取时,将补足吸液量所需1倍溶剂与第1次提取所需8倍量溶剂合并一起加入进行第1次提取。

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	P
A	366.077	2	8.412	6.940	<0.05
B	53.136	2	1.221	6.940	
C	36.429	2	0.837	6.940	
D(误差)	87.040	4			

2.6 验证试验

按处方比例称取乌梢蛇、当归、赤芍、苦参等药材共1 200 g,按以上确定的最优工艺进行回流提取,即在药材中加入16倍量60%乙醇,提取2次,第1次提取前加1倍量60%乙醇补足吸液量,再加8倍量60%乙醇提取2 h;第2次加8倍量60%乙醇提取1 h,合并2次提取液,回收乙醇,减压浓缩至干浸膏。重复试验3次,结果3次试验的平均收膏率为19.22% (RSD=0.96%, $n=3$),阿魏酸平均含量为0.71 mg/g (RSD=2.96%, $n=3$);芍药苷平均含量为22.13 mg/g (RSD=2.03%, $n=3$);苦参碱平均含量为1.92 mg/g (RSD=2.55%, $n=3$);氧化苦参碱平均含量为9.88 mg/g (RSD=1.23%, $n=3$),各指标3次试验的RSD均在3%以内,表明工艺稳定可行。

3 讨论

3.1 提取工艺参数优化方法的改进

本研究为保证终产品的疗效,先以药效学结果为考察指标对全方进行了提取工艺路线初筛。发现各工艺组均对右旋糖酐40诱发的小鼠全身瘙痒有止痒效果,其中全方以60%乙醇回流提取效果最优,因此确定了药材全方采用60%乙醇回流提取的工艺路线。之后采用正交试验法优选乙醇回流提取工艺参数,以阿魏酸、芍药苷、苦参碱与氧化苦参碱含量以及收膏率等组成的综合评分结果为考察指标进行乙醇提取工艺参数的筛选。因考虑到中药药效一般多为全方提取物,即各药材多种成分协同作用的结果,故收膏率应做为评价工艺的关键指标,因此设定综合评分公式中收膏率的权重系数为0.5,其他指标性成分含量的权重系数共占0.5,以此来优化提取工艺参数更为合理。

3.2 正交试验设计方法的改进

提取次数为影响中药提取率的因素之一,所以在中药提取时必须进行提取次数的考察,但在 $L_9(3^4)$ 表中,提取次数作为一个因素会与其他因素产生交互作用,在实际操作过程中会引起其他水平的变化^[23]。目前已经有较多文献^[24-26]不将提取次数作为影响因素放入正交设计表中,而是先考察提取次数,提取次数确定后,再采用正交试验考察其他因素,这样就可避免交互作用的影响,但是试验次数会有所增加。在本研究提取工艺的正交试验设计中,则将提取次数和提取时间合并为一个因素,在不增加试验次数和不引起其他因素项下水平变化的情况下同时考察了提取时间和提取次数。

参考文献

[1] 陈如泉.血虚证辨证与研究[M].北京:中国医药科技出版社,2000:234.
[2] 徐广侠.当归有效成分及其药理作用的分析[J].中国卫生产业,2014(33):29-30.

[3] 陆小华,马骁,王建,等.赤芍的化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(4):595-602.
[4] 庄疆赢,黄娟,吴华堂.当归饮子联合药浴洗剂治疗糖尿病皮肤瘙痒症38例临床观察[J].湖南中医杂志,2017,33(4):15-16.
[5] 林皆鹏.当归饮子加味合复方甘草酸苷片治疗老年性皮肤瘙痒症100例[J].中国民族民间医药,2017,26(1):109-111.
[6] 熊家青,刘丽芳,范洪桥.止痒润肤乳联合当归饮子治疗血虚风燥型老年性皮肤瘙痒症临床观察[J].中医药临床杂志,2015,27(8):1129-1131.
[7] 胡杰,冯丽莉,崔福德.当归川芎中阿魏酸提取的研究[J].时珍国医国药,2004,15(11):732-733.
[8] 支敏倩.当归饮片中阿魏酸提取工艺研究[J].黑龙江中医药,2006(4):56-57.
[9] 贾家丽,卞俊.芍药苷提取与分离纯化的研究进展[J].中国药房,2014,25(37):2969-2971.
[10] 陈赞.煎煮法提取赤芍中芍药苷的研究[J].时珍国医国药,2010,21(3):645-646.
[11] 邓丽琴.苦参中苦参碱提取工艺研究[J].时珍国医国药,2006,17(2):233-234.
[12] 张哲,李明春,石永坚.正交试验法优选复方苦黄方的水提取工艺[J].中国药房,2015,26(28):3970-3972.
[13] 黎迎,杜守颖,陆洋,等.正交试验结合药效学试验优选复方南星止痛膏处方提取工艺[J].中国中药杂志,2013,38(6):2590-2593.
[14] 王敏,杜守颖,陈笑南,等.药效学结合正交试验优选参连颗粒剂的醇提工艺[J].中国中药杂志,2017,42(4):702-706.
[15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:133-134,158,203.
[16] 赵东,李艳彦.黄芪桂枝五物汤对D-半乳糖联合右旋糖酐-40致小鼠衰老皮肤瘙痒模型AQP3的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(7):148-154.
[17] 莫秀梅,刘俊峰,陈玉兴,等.培土清心颗粒对豚鼠皮肤瘙痒模型的止痒效果研究[J].新中医,2015,47(7):272-274.
[18] 何迅,艾儒棣,王尚兰.养血止痒胶囊药效学研究[J].中药新药与临床药理,2004,15(5):306-309.
[19] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2001:202-203.
[20] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2010:1698.
[21] 李小芳.中药提取工艺学[M].北京:人民卫生出版社,2014:26,37-38.
[22] 曹光明.中药浸提物生产工艺学[M].北京:化学工业出版社,2009:54-57.
[23] 沈群.中药研究中的正交设计问题[J].数理医药学杂志,2011,24(1):19-20.
[24] 彭静,陈志良,梁磊,等.正交试验优选易宁更年期颗粒水提工艺及药效学对比[J].中成药,2016,38(5):1174-1176.
[25] 周晶,李玲,王冰,等.葛根复方挥发油和水溶性成分提取工艺的优化[J].中成药,2017,39(3):517-522.
[26] 曾海荣,赵振,梁美云,等.紫花地丁止痒复方提取工艺的优化[J].中成药,2016,38(5):1174-1176.

(收稿日期:2018-04-18 修回日期:2018-06-15)

(编辑:刘萍)