

星点设计-响应面分析法优选香薷提取工艺[△]

刘颖新*, 刘利利, 邱艳明, 孔兴欣(湖南中医药大学高等专科学校药学院, 湖南 株洲 412012)

中图分类号 R914;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)19-1757-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.19.09

摘要 目的: 优选香薷的提取工艺。方法: 以乙醇体积分数、提取时间、溶媒比为自变量, 香荆芥酚含量、麝香草酚含量为因变量, 通过对自变量各水平进行多元线性回归及二项式拟合, 采用星点设计响应面分析法优选香薷提取工艺。结果: 最佳提取工艺为11倍量75%乙醇提取3次, 每次70 min, 该工艺条件下, 香荆芥酚质量分数为0.303%、麝香草酚质量分数为0.722%。结论: 星点设计-响应面分析法优选的香薷提取工艺, 方法简便, 合理可行。

关键词 香薷; 星点设计; 响应面分析法; 香荆芥酚; 麝香草酚

Optimization of Extraction Technology for Mosla Herba by Central Composite Design-response Surface Method

LIU Ying-xin, LIU Li-li, QIU Yan-ming, KONG Xing-xin (Dept. of Pharmacy, Hunan Traditional Chinese Medical College, Hunan Zhuzhou 412012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize extraction process of Mosla Herba. METHODS: The extraction process of Mosla Herba was optimized by central composite-response surface method. Taking the ethanol concentration, extraction time and the amount of solvent as independent variables, and the content of carvacrol and thymol as dependent variable, each level of independent variables were fitted by multiple linear regression and binomial formula; The extraction process of Mosla Herba was optimized by response surface method. RESULTS: Optimal extraction technology was as follows: 11-folds of 75% ethanol, extracting for 3 times, 70 min each time. The concentration of carvacrol was 0.303% and that of binomial formula was 0.722%. CONCLUSIONS: The extraction technology of Mosla Herba optimized by central composite-response surface method is simple, reasonable.

KEYWORDS Mosla Herba; Central composite design; Response surface method; Carvacrol; Thymol

续表8

Continued tab 8

树脂型号	干膏质量, g	70%乙醇洗脱量, ml	体积, ml	干膏收率, %	平均干膏收率, %	精制倍数	平均精制倍数
Seplite XDA-7	0.35	265	25	0.37	0.37	13.09	10.86
	0.34	280	25	0.38		8.81	
	0.36	270	25	0.39		11.03	
	0.36	260	25	0.37	0.38	12.84	
	0.35	280	25	0.39		8.72	
Seplite LX-20	0.34	265	25	0.36		11.77	10.95
	0.36	265	25	0.38	0.38	12.66	
	0.35	290	25	0.40		8.43	
Seplite LSA-5B	0.32	285	25	0.37		9.25	12.12
	0.30	265	25	0.31	0.35	13.61	
	0.34	265	25	0.36		13.50	

由表8可知, Seplite LX-66型大孔吸附树脂的干膏收率最小、平均精制倍数最高, 即Seplite LX-66型大孔吸附树脂对水提液精制效果最好。

综合考虑7种型号大孔吸附树脂综合评分和70%乙醇洗脱液干膏率情况, 本工艺选择Seplite LX-66型大孔吸附树脂。

3 讨论

本研究采用动态吸附洗脱, 通过建立补肾益寿胶囊药材水提液HPLC指纹图谱, 从水提液和成方制剂中选取既有共性又有代表性的10个色谱峰作为评价指标, 并结合70%乙醇洗

脱干膏收率, 多指标评价中药复方制剂精制工艺参数, 在70%乙醇洗脱液中, 10个指标成分含量尽量高的前提下, 干膏收率越低, 精制效果越好, 最佳型号树脂为Seplite LX-66。本方法简单、合理、有效, 可为建立中药复方制剂精制工艺参数提供借鉴。

参考文献

- [1] 宋民宪, 郭维加. 国家中成药[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 65.
- [2] 王高森, 候世祥, 朱浩, 等. 大孔树脂吸附纯化中药复方特性研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(15): 1 237.
- [3] 刘友平, 鄢丹, 秦春梅. 大孔吸附树脂纯化中药有效成分的影响因素[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(3): 212.
- [4] 徐小燕, 潘林梅. 影响大孔树脂吸附分离的因素及其在中药制备工艺中的应用[J]. 中国药房, 2007, 18(9): 719.
- [5] 王淑美, 李淑芳, 梁生旺, 等. 不同型号大孔吸附树脂对脑脉通颗粒中有效成分的吸附性能研究[J]. 中国药房, 2008, 19(15): 1 144.
- [6] 廖茂梁, 张铁军, 高文远, 等. 大孔吸附树脂纯化达原滴丸处方提取液的工艺研究[J]. 中草药, 2008, 39(1): 54.
- [7] 陈彦, 贾晓斌, 范晨怡, 等. 复方前列通胶囊纯化工艺的研究[J]. 中成药, 2007, 29(11): 1 605.
- [8] 王永刚, 苏薇薇, 梁少玲. 利用不同型号大孔树脂对田基黄水提成分进行分离[J]. 中药材, 2007, 30(12): 1 537.
- [9] 张琳, 杨磊, 牛卉颖, 等. 大孔树脂吸附分离长春花中的文多灵、长春质碱和长春碱[J]. 化工学报, 2008, 59(3): 607.

(收稿日期: 2013-08-19 修回日期: 2013-12-27)

[△] 基金项目: 湖南省教育厅科研项目(No. 12C1190)

* 讲师, 硕士。研究方向: 中药物质基础。E-mail: liuyx412@163.

香薷(Moslae Herba)为唇形科植物石香薷或江香薷的干燥地上部分,具有发汗解表、化湿和中之功效^[1]。现代研究表明,香薷主要化学成分为香荆芥酚、麝香草酚等挥发油类^[2]。药理研究报道,香薷具有抗菌、抗病毒、抗病原微生物等作用。目前,国内对于香薷提取工艺的研究多采用正交试验设计或均匀试验设计的方法,但这两种方法存在精度不高的缺点。本研究以香荆芥酚、麝香草酚含量为考察指标,采用星点设计-响应面分析法结合总评归一值法优化香薷提取工艺,旨在为香薷进一步的合理研究与利用奠定基础,同时为本课题组的后续研究提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-10AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司);AE240型电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);DHG-9070A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);KQ-500型医用数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药材

香薷购自湖南双鹤医药有限公司,经湖南中医药大学高等专科学校生药教研室彭学著副教授鉴定为真品。

1.3 试剂

香荆芥酚对照品(批号:110691-200602)、麝香草酚对照品(批号:100508-200701)均由中国食品药品检定研究院提供;乙醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 香荆芥酚和麝香草酚含量的测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-5%乙酸水(60:40, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:274 nm;柱温:35 ℃;进样量:10 μl。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取香荆芥酚、麝香草酚对照品适量,置10 ml量瓶中,乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,即制成香荆芥酚(0.360 mg/ml)、麝香草酚(0.350 mg/ml)的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取香薷饮片适量,置于圆底烧瓶中,采用有机溶剂回流法,加乙醇回流提取一定时间,滤过,4 ℃减压干燥至恒质量,所得浸膏粉用少量乙醇溶解后置100 ml量瓶中,加乙醇定容至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,即得。

2.1.4 标准曲线的制备 精密吸取香荆芥酚和麝香草酚对照品溶液适量,按倍数关系用乙醇稀释成6种不同质量浓度的溶液,摇匀,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定。以对照品质量浓度(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得香荆芥酚、麝香草酚回归方程分别为 $y=317.083x+52.206$ ($r=0.9999$)、 $y=375.217x+59.316$ ($r=0.9998$)。结果表明,香荆芥酚、麝香草酚质量浓度分别在0.018~0.360、0.0175~0.350 mg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.5 精密度试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液10 μl,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,重复6次。结果,香荆芥酚、麝香草酚峰面积积分值的RSD分别为0.91%、0.59%,表明本试验精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,分别于0、4、8、12、24 h按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,重复6次。结果,香荆芥酚、麝香草酚峰面积积分值的RSD分别为1.0%、0.9%,表明被测物基本稳定。

2.1.7 重复性试验 取同一香薷饮片适量,按“2.1.3”方法平行制备供试溶液6份,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定。结果,香荆芥酚、麝香草酚质量分数的RSD分别为1.20%、0.91%,表明本方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 分别精密称取9份已知含量的香薷浸膏粉各约0.1 g。分别准确加入香荆芥酚、麝香草酚对照品溶液适量,制备高、中、低质量浓度样品,按“2.1.3”项下方法制备供试品,按“2.1.1”项下色谱条件测定。结果,香荆芥酚、麝香草酚平均回收率分别为98.51%(RSD=1.6%)、102.3%(RSD=2.01%),表明本方法回收率良好。

2.2 星点设计-效应面试验优选处方

2.2.1 试验设计 根据预试验结果选取乙醇体积分数(X_1)、提取时间(X_2)、溶媒比(X_3)为考察因素,因为提取次数为非连续变量,回归处理困难,结合工业生产实际及相关文献,将其暂定为3次。根据星点设计原理,每因素取5个水平。以香薷中主要有效成分香荆芥酚、麝香草酚的质量分数为评价指标。为了将所有指标综合为一个能反映总体效应结果的值,数据处理方法采用“归一化法”,采用Hassan方法^[3]分别对各指标进行数学转换求归一值,计算公式: $d_i=(Y_i-Y_{min})/(Y_{max}-Y_{min})$ 。式中, d_i 为归一值; Y_i 为实测值; Y_{max} 为测得最大值; Y_{min} 为测得最小值。

计算出各指标 d_i 后,再对各指标 d_i 进行处理,得总评归一值(OD),计算公式^[4]: $OD=(d_1 \times d_2 \cdots d_n)^{1/n}$ 。因素水平见表1;提取工艺星点设计试验安排见表2。

表1 因素水平

Tab 1 Factors and levels

水平	$X_1, \%$	X_2, min	$X_3, \text{倍}$
-1.682	50.00	30.00	6.00
-1	60.14	54.33	7.62
0	75.00	90.00	10.00
1	89.86	125.67	12.38
1.682	100.00	150.00	14.00

2.2.2 模型拟合 试验以总评OD为因变量,使用Design-Expert 7.1.6对各因素进行多元线性回归和二项式拟合。多元线性回归方程为 $Y=0.1707-5.1687 \times 10^{-3}X_1-1.4423 \times 10^{-3}X_2+0.0945X_3$;二项式拟合方程为 $Y=-11.490+0.177X_1+0.0306X_2+0.813X_3-2.415 \times 10^{-4}X_1X_2-2.601 \times 10^{-3}X_1X_3-1.4753 \times 10^{-3}X_2X_3-8.964 \times 10^{-4}X_1^2+4.483 \times 10^{-6}X_2^2-0.0195X_3^2$ 。

从多元线性回归方程可知, $r=0.4280$,其相关系数过小, P 无统计学意义,不能通过检验,模型拟合度低,预测性不好。

表2 提取工艺星点设计试验安排

Tab 2 Central composite design of extraction technology

序号	X_1	X_2	X_3	香荆芥酚, %	麝香草酚, %	OD
1	-1	-1	-1	0.131	0.384	0.000
2	1	-1	-1	0.199	0.492	0.361
3	-1	1	-1	0.215	0.512	0.430
4	1	1	-1	0.189	0.453	0.280
5	-1	-1	1	0.303	0.722	0.924
6	1	-1	1	0.318	0.688	0.936
7	-1	1	1	0.291	0.693	0.872
8	1	1	1	0.202	0.481	0.353
9	-1.682	0	0	0.214	0.519	0.437
10	1.682	0	0	0.179	0.356	0.000
11	0	-1.682	0	0.287	0.735	0.913
12	0	1.682	0	0.257	0.613	0.676
13	0	0	-1.682	0.162	0.414	0.156
14	0	0	1.682	0.274	0.654	0.775
15~20	0	0	0	0.276	0.675	0.807

注: No15~20为重复试验, 其值为平均值

note: No15~20 for repeat tests, the value is the average value

对二项式拟合方程进行方差分析, 结果见表3。由方差分析可知, 模型组具有高度的统计学意义, $r=0.9712$, 说明方程拟合度和可信度均较好, 可用此模型对香薷提取工艺进行分析和预测。 X_1 因素和 X_3 因素中一次项和二次项均具有统计学意义, 说明各具体试验因子对响应值的影响不是简单的线性关系。因此, 选择二项式拟合模型为成功模型, 实测值和预测值基本吻合, 具有较好的预测作用。

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
模型	1.83	9	0.20	37.52	<0.000 1
X_1	0.081	1	0.081	14.83	0.003 2
X_2	0.036	1	0.036	6.66	0.027 4
X_3	0.69	1	0.69	127.33	<0.000 1
X_1X_2	0.13	1	0.13	24.13	0.000 6
X_1X_3	0.068	1	0.068	12.47	0.005 4
X_2X_3	0.13	1	0.13	23.11	0.000 7
X_1^2	0.56	1	0.56	103.97	<0.000 1
X_2^2	4.689×10^{-4}	1	4.689×10^{-4}	0.086	0.774 9
X_3^2	0.18	1	0.18	32.47	0.000 2
残差	0.054	10	5.431×10^{-3}		
总差	1.89	19			

2.2.3 效应面优化与预测 根据回归方程, 作响应曲面图, 根据所拟合的响应曲面形状, 分析提取时间、乙醇体积分数、溶媒比对香薷中香荆芥酚和麝香草酚质量分数的影响, 见图1。基于已建立的数学模型, 得到最佳提取条件为11倍量75%乙醇提取3次, 每次70 min。

2.2.4 工艺验证试验 按照上述最佳工艺条件进行验证试验3次, 结果得到香荆芥酚质量分数为0.301%, 麝香草酚质量分数为0.729%, 总评归一值为0.9401, 预测值为0.9605, 偏差率为-2.12%, 说明本试验建立的数学模型可靠, 具有良好的预测性。

3 讨论

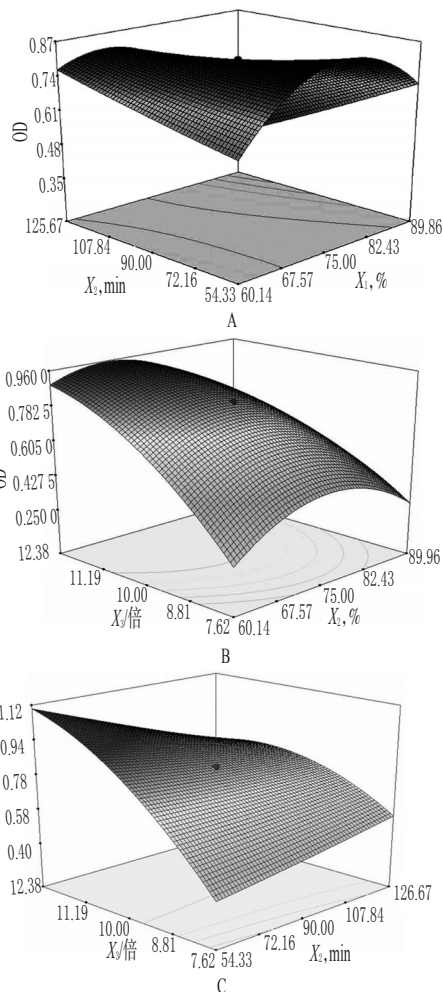


图1 三维响应面

A. 提取时间与体积分数对香荆芥酚与麝香草酚质量分数影响的三维响应面; B. 溶媒比与乙醇体积分数对香荆芥酚与麝香草酚质量分数影响的三维响应面; C. 溶媒比与提取时间对香荆芥酚与麝香草酚质量分数影响的三维响应面

Fig 1 Three-dimensional response surface

A. effects of extraction time and volume fraction on the content of carvacrol and thymol; B. effects of solvent ratio and volume fraction on the content of carvacrol and thymol; C. effects of solvent ratio and extraction time on the content of carvacrol and thymol

目前, 应用星点设计-响应面分析法优化药材提取工艺较多^[5], 但对香薷的提取工艺优化多采用正交设计或均匀设计的方法^[6-10], 普遍存在预测性不好、精确度差等缺点。星点设计-响应面分析法选用二次多项式进行拟合得到最佳的模型拟合度。试验中二项式模型的拟合相关系数高, 模型可信度高, 预测值更接近真实值。

本试验结合星点试验设计方法深入地对香薷提取工艺参数进行系统考察, 并引入了总评“归一值”对多指标进行了处理, 使得试验模型具有很好的预测性, 可为香薷更好的开发、利用奠定基础。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 242.

正交试验优选藏药独一味提取工艺^Δ

邱建国*,李茂星,张泉龙,尉丽力,贾正平#,张汝学,周 珺,邱宜农,王春英,陶 锐(兰州军区兰州总医院药材科/全军高原环境损伤防治重点实验室,兰州 730050)

中图分类号 R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)19-1760-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.19.10

摘要 目的:优选独一味的提取工艺。方法:以总环烯醚萜苷、总黄酮质量浓度和干浸膏得率为指标,以加水量、提取次数、提取时间为考察因素,采用正交试验优选独一味的提取工艺。同时采用冷藏除去杂质、低温减压干燥等工艺制备干浸膏。结果:优选工艺为加26倍量水量(初次补加4倍量的水),提取3次,每次1.5 h,水提取物在2~4℃下冷藏除去杂质,80℃减压干燥;该工艺条件下,总环烯醚萜苷质量浓度为45.35 μg/ml,总黄酮质量浓度为37.89 μg/ml,干浸膏得率为39.29%。结论:所选工艺稳定、可靠,有助于提高独一味水提取工艺及以水提物为原料生产的相关制剂的质量。

关键词 独一味;总黄酮;总环烯醚萜苷;干浸膏得率;提取工艺;正交试验

Optimization of the Extraction Process of Tibetan Medicine *Lamiophlomis rotata* by Orthogonal Test

QIU Jian-guo, LI Mao-xing, ZHANG Quan-long, WEI Li-li, JIA Zheng-ping, ZHANG Ru-xue, ZHOU Jun, QIU Yi-nong, WANG Chun-ying, TAO Rui (Dept. of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Key Lab of Prevention and Cure for Plateau Environment Damage of PLA, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction process of *Lamiophlomis rotata*. METHODS: The optimum extraction process was selected by orthogonal test with the yield of total iridoid glycoside, total flavonoids and dry extract as index using the amount of water, extraction times and extraction time as factor. The dry extract was prepared by cold storage, dust removal, dried under reduced pressure and low temperature. RESULTS: The optimum technology was as follows: adding 26-folds of water (4-folds of water at the first time), extracting for 3 times, 1.5 h per time, removing impurity at 2-4℃, reducing pressure and drying at 80℃; under the condition, the concentration of total iridoid glycoside was 45.35 μg/ml, the concentration of total flavonoids was 37.89 μg/ml, and the yield of dry extract was 39.29%. CONCLUSIONS: The optimum technology is stable and reliable, contributes to improve water extraction technology of *L. rotata* and the quality of related prepared.

KEYWORDS *Lamiophlomis rotata*; Total flavonoids; Total iridoid glycoside; Yield of dry extract; Extraction technology; Orthogonal experiment

藏药独一味来源于唇形科独一味属植物独一味 *Lamiophlomis Rotata* (Benth)。Kudo的地上部分,具有活血、止血镇痛等功效^[1],其主要化学成分有黄酮类化合物木犀草素、芹菜素和

槲皮素等,环烯醚萜苷类化合物山柰苷甲酯、番木鳖苷、8-O-乙酰山柰苷甲酯等,苯乙醇苷类化合物麦角甾苷、连翘酯苷B等,此外还含有偏诺皂苷元、β-谷甾醇等^[2]。采用正交试验法研究

- [2] 丁晨旭,纪兰菊.香薷化学成分及药理作用研究进展[J].上海中医药杂志,2005,39(5):63.
- [3] 吴伟,崔光华,陆彬.试验设计中多指标的优化:星点设计和总评“归一值”的应用[J].中国药理学杂志,2000,35(8):532.
- [4] Hassan EE, Parish RC, Gallo JM. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anti cancer agent, oxantrazole[J]. *Pharm Res*, 1992, 9(3):390.
- [5] 辛秀,袁琳,雷磊,等.星点设计-效应面法优化赶黄草提

- 取工艺[J].中国药房,2009,20(24):1872.
- [6] 黄家卫,盛振华,吴巧凤.香薷挥发油的提取工艺研究[J].中华中医药杂志,2010,25(12):2136.
- [7] 贾连群,杨关林,陈阳,等.中心组合设计-效应面法优选化痰祛痰颗粒的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(13):22.
- [8] 陈学智,谢志军,温成平,等.中心组合设计优化小香勾总黄酮提取工艺研究[J].中华中医药杂志,2013,28(4):1122.
- [9] 金达明,吴俊,赵岩,等.中心组合设计-响应面分析法优选人参中总皂苷的超声提取工艺[J].时珍国医国药,2012,23(9):2148.
- [10] 孙鹏,裴国亮,孙先锋.中心组合设计优化酶法提取胖大海多糖工艺[J].食品工业科技,2013,34(2):268.

(收稿日期:2013-07-09 修回日期:2014-03-23)

Δ 基金项目:甘肃省科技重大专项计划项目(No.1102FKDA012)
* 副主任药师。研究方向:高原植物药。电话:0931-8994676。
E-mail:qjianguo@163.com
通信作者:主任药师,博士研究生导师,博士。研究方向:医院药理学。电话:0931-8994652