

星点设计-效应面法优选欣宁泡腾片提取工艺

陈 飞^{1,2}, 邢雪飞^{2,3}, 白 雪², 刘素香², 张铁军^{2*}, 陈常青^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300070

2. 天津药物研究院, 天津 300193

3. 哈尔滨商业大学, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘 要: **目的** 采用星点设计-效应面法优选欣宁泡腾片提取工艺。**方法** 在单因素试验的基础上, 选取对提取工艺影响较大的乙醇体积分数、提取时间和溶媒倍量为考察因素, 以五味子醇甲、芍药苷、橙皮苷提取转移率为考察指标, 对其进行权重计算, 综合评定, 通过对考察因素各水平进行多元线性回归及二项式拟合, 用效应面法选取最佳工艺参数, 同时进行预测分析。**结果** 多元二项式模拟的模型最佳: $Y = -209.21 + 6.67A + 39.68B + 6.59C + 0.077AB - 0.026AC - 0.59BC - 0.051A^2 - 8.37B^2 - 0.13C^2$ ($r = 0.9793$, $P < 0.01$)。优选的最佳提取工艺条件为: 乙醇加热回流提取, 乙醇体积分数为 65%, 提取 2 次, 提取时间为每次 2 h, 溶媒倍量 12 倍; 在此提取工艺下, 五味子醇甲、芍药苷、橙皮苷的平均转移率分别为 85.33%、88.77%、93.18%, 综合评分为 88.72%, 与预测值 89.22% 基本相符。**结论** 建立的模型可较好地体现因素与指标的关系, 具有良好、可靠的预测性。

关键词: 欣宁泡腾片; 芍药苷; 橙皮苷; 五味子醇甲; 提取工艺; 星点设计; 效应面法

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)11-1566-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.11.013

Optimization of extraction technology for Xinning Effervescent Tablet by central composite design/response surface method

CHEN Fei^{1,2}, XING Xue-fei^{2,3}, BAI Xue², LIU Su-xiang², ZHANG Tie-jun², CHEN Chang-qing²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract: Objective To optimize the extraction technology for Xinning Effervescent Tablet (XNET) by central composite design/response surface method. **Methods** Based on single-factor test, the independent variables were ethanol volume fraction, extracting time, and solvent ratio, while the dependent variables were extracting transfer rates of paeoniflorin, hesperidin, and schisandrin, with their weight calculation for a composite score. Multiple linear regression and multivariate binomial fit were used to estimate mathematic relationship between independent variables and dependent variables. Response surface description was based on optimal mathematical model, and then the optimal technical conditions were chosen. **Results** The best multi-binomial model simulation was as follows: $Y = -209.21 + 6.67A + 39.68B + 6.59C + 0.077AB - 0.026AC - 0.59BC - 0.051A^2 - 8.37B^2 - 0.13C^2$ ($r = 0.9793$, $P < 0.01$). Optimal extraction conditions were as follows: ethanol refluxing extraction, ethanol volume fraction of 65%, extraction time of 2 h, and solvent ratio of 12 (mL:g). Under these optimal conditions, the average extracting transfer rates of schisandrinthe, paeoniflorin, and hesperidin were 85.33%, 88.77%, and 93.18%, and the actual extracting rate of catalpol was 88.72%, matching with the predicted extraction rate of 89.22%. **Conclusion** The established model can better reflect the relationship between the factors and indicators, with good and reliable predictability.

Key words: Xinning Effervescent Tablet; paeoniflorin; hesperidin; schisandrin; extraction technology; central composite design; response surface method

收稿日期: 2014-03-28

作者简介: 陈 飞 (1986—), 女, 河北廊坊人, 天津中医药大学中药专业硕士研究生。Tel: (022)23006840 E-mail: chenfei918100@163.com

*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: zhangtj@tjpr.com

陈常青 Tel: (022)23006829 E-mail: chencq@tjpr.com

更年期综合征(MPS)是由于更年期女性卵巢功能衰退而出现的以植物神经功能失调、大脑皮层功能紊乱和情绪障碍为主的一系列症状,如潮热、多汗、月经紊乱、失眠健忘、心悸、头晕耳鸣、烦躁易怒、焦虑、腰膝酸软、疲劳乏力等。中医学认为 MPS 的主要原因为肾气亏虚。欣宁泡腾片(Xinning Effervescent Tablet, XNET)为天津药物研究院自主研制的中药复方,功效清热养阴、安神抗疲劳,主要治疗 MPS。此方包括五味子、白芍、陈皮、百合、大枣等 10 味药。方中五味子益气生津、补肾宁心,用于 MPS 之心肾不交、虚烦心悸、失眠多梦,为君药;五味子中含有挥发油、木脂素、多糖等多种化学成分^[1],其主要药效成分五味子醇甲具有镇静催眠、抗氧化、延缓衰老、抗惊厥等作用^[2-3];白芍补血养血、敛阴止汗、柔肝止痛,用于 MPS 之肝郁不舒、心烦焦虑、自汗盗汗,具有镇静^[4]、抗抑郁^[5]、脑缺血损伤保护^[6],并促进雌激素合成素分泌的作用^[7],为臣药,芍药苷占芍药总苷的 90%以上,是白芍的主要药效成分^[8]。陈皮行气力强,助白芍疏肝解郁,为佐药,橙皮苷为其主要药效成分^[9],方中其他药味多为补益类中药,全方共奏安神养颜、清热养阴的功效。前期通过实验筛选出乙醇回流提取为最佳工艺路线,本实验对此工艺进行优化,以君药五味子的有效成分五味子醇甲、臣药白芍的有效成分芍药苷和佐药陈皮的有效成分橙皮苷的转移率为评价指标,在单因素实验基础上结合星点设计-效应面法优化提取工艺条件。

国内常用的比较成熟的试验设计优化方法包括正交试验设计法和均匀设计法,虽然此 2 种方法简便易行,试验结果易得,但其试验精度不够,而且在工艺优化中常需考察多个因素对结果的影响并期望得到各因素间的交互作用,所以现在常用的试验方法已不能满足科研的较高要求。星点设计-效应面法是集数学和统计学方法于一体的新型试验设计优化方法,适用于二次以上数学模拟方程的设计^[10],近年来以其具有试验次数少、精度高、预测值精准等优点,被优先选择应用于药效学领域,常用于制剂工艺和处方筛选,成效显著^[11-12],其应用在处方提取工艺优化的报道也日益增多^[13-15]。本实验采用星点设计-效应面法考察了乙醇体积分数、提取时间、溶媒倍量对 3 种指标成分转移率的影响,三者均为连续变量,而回流次数为非连续变量,其作为考察因素不能使用星点设计-效应面法^[16],将此方法

运用在本实验当中,旨在确定欣宁泡腾片提取工艺的最佳工艺参数,为更好的研究和开发此中药复方提供试验依据。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪:安捷伦 1100 系列高效液相色谱仪,1100 单元泵系统,LC 系统化学工作站,B.01.01C,安捷伦公司。色谱柱:Dikma Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm),迪马科技; Sartorius 十万分之一电子天平;Mettler Toledo 万分之一天平,Mettler Toledo 公司;旋转蒸发器,无锡市星海王生化设备有限公司;循环水式多用真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;AS3120 系列超声仪,奥赛特塞恩思仪器有限公司;双列四孔电热恒温水浴锅,山东医疗器械厂。

对照品芍药苷(批号 110736-200933)、橙皮苷(批号 110721-201014)、五味子醇甲(批号 110857-200406),中国食品药品检定研究院。乙腈、甲醇,色谱纯,天津市康科德科技有限公司;磷酸,分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;提取用乙醇,药用 95%乙醇;水为纯净水,天津天慈水。

五味子、白芍、陈皮、百合等药材均购自天津中药饮片厂,经天津药物研究院张铁军研究员鉴定,分别为五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实、白芍 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮、百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 的干燥肉质鳞叶。

2 方法与结果

2.1 乙醇回流提取工艺

将处方中各药材破碎成小块,称取处方量的各药材共 100 g,加入一定量一定体积分数的乙醇进行回流,得乙醇提取液,分别测定提取液中芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲的质量浓度,计算转移率。

转移率=提取液中指标成分的质量浓度×提取液体积/药材中指标成分的总质量

2.2 提取液中 3 种指标成分的测定

2.2.1 色谱条件^[17-18] Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),芍药苷、橙皮苷检测流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液(17:83);检测波长:230 nm;五味子醇甲检测流动相:甲醇-水(64:36);检测波长:250 nm;柱温:30 ℃;进样量 20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取芍药苷对照品 7.71 mg 置 25 mL 量瓶,橙皮苷对照品 18.02 mg

置 50 mL 量瓶, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成含芍药苷 308.4 $\mu\text{g/mL}$ 、橙皮苷 360.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液; 五味子醇甲对照品 1.76 mg 置 25 mL 量瓶, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成含五味子醇甲 70.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。分别精密吸取芍药苷对照品储备液 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 mL 至 10 mL 量瓶, 编号为 1~5。再分别精密吸取 0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 mL 橙皮苷对照品储备液至 1~5 号量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。分别精密吸取五味子醇甲对照品储备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 至 10 mL 量瓶, 编号分别为 1~5。用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得五味子醇甲对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密吸取乙醇提取液 12 mL 至 25 mL 量瓶中, 用 70% 甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 将处方中各药材破碎成小块, 称取处方量的各药材, 其中 1 份少白芍、陈皮, 另 1 份少五味子, 分别加入一定量一定体积分数的乙醇进行回流, 分别得到白芍、陈皮阴性乙醇提取液和五味子阴性乙醇提取液, 按“2.2.3”项下方法处理得到阴性样品溶液。

2.2.5 线性关系考察

(1) 芍药苷和橙皮苷: 分别精密吸取“2.2.2”项下编号为 1~5 的芍药苷与橙皮苷混合对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 按芍药苷及橙皮苷的色谱条件进行测定, 分别以测定的峰面积为纵坐标 (Y), 对照品进样量为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程: 芍药苷为 $Y=22\,932X+97.876$, $r=0.999\,8$, 结果表明芍药苷在 123.36~2 467.20 ng 呈良好的线性关系; 橙皮苷 $Y=33\,098X+13.468$, $r=0.999\,7$, 结果表明橙皮苷在 360.4~3 604.0 ng 呈良好的线性关系。

(2) 五味子醇甲: 分别精密吸取“2.2.2”项下编号为 1~5 的五味子醇甲对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 按五味子醇甲测定的色谱条件进行测定, 以五味子醇甲峰面积为纵坐标 (Y), 对照品进样量为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=6.5\times 10^7X+13\,048$, $r=0.999\,9$, 结果表明五味子醇甲在 70.4~563.2 ng 呈良好的线性关系。

2.2.6 提取液中芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲的测定 分别精密吸取芍药苷、橙皮苷混合对照品溶液, 五味子醇甲对照品溶液, 供试品溶液及阴性样品溶液各 20 μL , 照“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 采用外标法进行计算, 色谱图见图 1 和 2。

2.2.7 药材中芍药苷、橙皮苷及五味子醇甲的测定

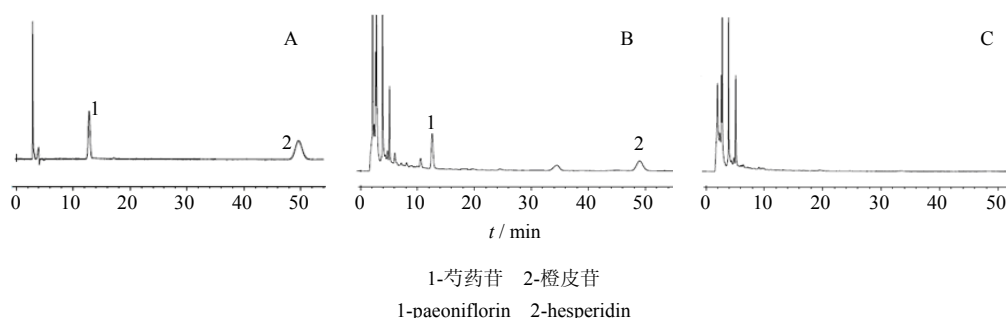


图 1 混合对照品 (A), 提取液 (B), 缺白芍、陈皮的阴性提取液 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of mixed reference (A), extract solution (B), and negative solution without *Paeoniae Alba Radix*, and *Citri Reticulatae Pericarpium* (C)

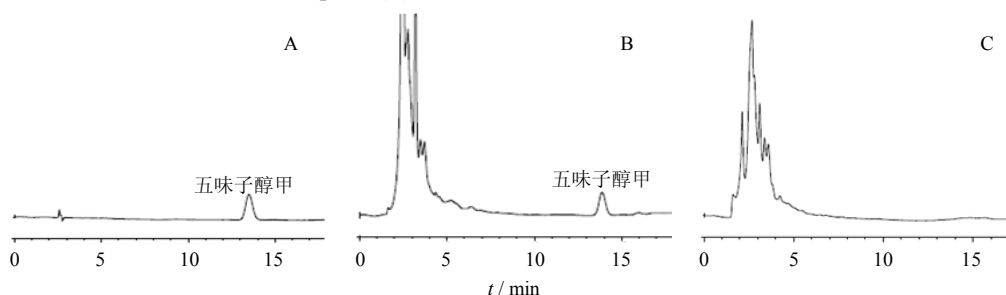


图 2 五味子醇甲对照品 (A), 提取液 (B) 和缺五味子阴性提取液 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC of schisandrin reference substance (A), extract solution (B), and negative solution without *Schisandrae Fructus* (C)

按照《中国药典》2010 年版一部“白芍”、“陈皮”、“五味子”项下方法分别测定,得本批药材中芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲的质量分数分别为 2.29%、4.52%、0.61%。

2.3 单因素试验考察

2.3.1 乙醇体积分数的考察 将药材砸成小块,按处方配比称取 10 味药材共 100 g,平行称取 5 份,分别加入 8 倍量体积分数为 50%、60%、70%、80%、85%乙醇,加热回流提取 2 次,每次 1 h。滤过,2 次滤液合并,减压浓缩至约 500 mL,取 5 mL 置 25 mL 量瓶,用 70%甲醇稀释并定容至刻度,照“2.2.1”项下色谱条件测定芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲的质量分数,分别计算其转移率。结果见表 1。

表 1 不同乙醇体积分数对芍药苷、橙皮苷和五味子醇甲转移率的影响

Table 1 Effect of different ethanol volume fractions on extraction transfer rates of paeoniflorin, hesperidin, and schisandrin

乙醇体积 分数 / %	转移率 / %		
	芍药苷	橙皮苷	五味子醇甲
50	70.73	76.73	53.57
60	82.04	83.49	81.92
70	76.49	68.53	76.31
80	67.31	56.92	56.53
85	60.93	50.50	50.93

2.3.2 溶媒倍量的考察 将药材粉碎成小块,按处方配比称取 10 味药材共 100 g,平行称取 5 份,分别加入 4、6、8、10、12 倍量体积分数为 60%乙醇,加热回流提取 2 次,每次 1 h,滤过,2 次滤液合并,减压浓缩至约 500 mL,取 5 mL 置 25 mL 量瓶,用 70%甲醇稀释并定容至刻度,照“2.2.1”项下色谱条件测定芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲的质量分数,分别计算其转移率。结果见表 2。

2.3.3 提取时间的考察 将药材粉碎成小块,按处方配比分别称取 10 味药材,共 100 g,平行称取 5 份,加入 12 倍量体积分数为 60%乙醇,加热回流提取 2 次,每次提取时间分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h,滤过,2 次滤液合并,减压浓缩至约 500 mL,取 5 mL 至 25 mL 量瓶,用 70%甲醇稀释并定容至刻度,照“2.2.1”项下色谱条件测定芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲的质量分数,分别计算其转移率。结果见表 3。

表 2 不同溶媒倍量对芍药苷、橙皮苷和五味子醇甲转移率的影响

Table 2 Effect of different ethanol volume fractions on extraction transfer rates of paeoniflorin, hesperidin, and schisandrin

溶媒倍量/倍	提取率 / %		
	芍药苷	橙皮苷	五味子醇甲
4	69.92	58.67	53.08
6	75.26	61.86	68.54
8	78.72	65.11	71.20
10	79.46	69.70	76.99
12	82.27	73.78	81.32

表 3 不同提取时间对芍药苷、橙皮苷和五味子醇甲转移率的影响

Table 3 Effect of different extracting time on extraction transfer rates of paeoniflorin, hesperidin, and schisandrin

提取时间 / h	转移率 / %		
	芍药苷	橙皮苷	五味子醇甲
0.5	59.08	51.92	42.54
1.0	68.31	55.85	52.34
1.5	74.10	62.04	75.82
2.0	84.32	81.72	81.96
2.5	85.43	67.72	87.50

2.4 星点设计-效应面法优化处方提取工艺

2.4.1 试验设计 在单因素试验结果基础上,确定回流提取工艺的影响因素以及各因素所取的水平范围。本实验以芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲转移率为考察指标,考察因素为乙醇体积分数(A)、提取时间(B)和溶媒倍量(C)。根据星点设计的原理,每个因素设 5 水平,用代码 $-\alpha$ 、 -1 、 0 、 1 、 α 来表示,代码所代表的实际操作物理量见表 4。

以芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲转移率为考察指标,对其进行权重系数分配,其中五味子醇甲的药效作用较强,其权重系数定为 0.4,芍药苷、橙皮苷的权重系数均定为 0.3。综合评分=芍药苷转移率 $\times$ 0.3+橙皮苷转移率 $\times$ 0.3+五味子醇甲转移率 $\times$ 0.4。采用星点设计优化提取条件,按上述提取及测定方法测定各成分转移率。试验设计及结果见表 4。

2.4.2 模拟拟合 将所得数据用 Design-Expert 8.0.6 软件进行效应面试验分析,以各考察指标的综合得分为效应值,对各因素进行多元线性回归和二

表4 欣宁泡腾片处方提取工艺星点设计试验及结果

Table 4 Arrangement and results of central composite design of extraction technology for XNET

试验号	A / %	B / h	C / 倍	转移率 / %			综合评分 / %
				芍药苷	橙皮苷	五味子醇甲	
1	54.20 (-1)	2.26 (1)	4.96 (-1)	80.745 3	72.207 0	64.978 3	71.877 0
2	67.50 (0)	0.50 (-1.316)	8.00 (0)	61.295 5	54.472 2	36.923 7	49.499 8
3	67.50 (0)	2.50 (1.316)	8.00 (0)	88.851 4	89.838 9	87.745 4	88.705 3
4	67.50 (0)	1.50 (0)	8.00 (0)	79.050 1	72.615 4	73.494 8	74.897 6
5	54.20 (-1)	0.74 (-1)	11.04 (1)	84.351 3	69.231 5	47.198 8	64.954 4
6	67.50 (0)	1.50 (0)	12.00 (1.316)	86.343 8	88.472 5	82.548 5	85.464 3
7	67.50 (0)	1.50 (0)	8.00 (0)	89.802 3	73.452 0	82.241 9	81.873 1
8	85.00 (1.316)	1.50 (0)	8.00 (0)	73.454 2	42.019 9	45.829 1	52.973 9
9	67.50 (0)	1.50 (0)	8.00 (0)	82.583 2	75.658 6	79.809 1	79.396 2
10	80.80 (1)	2.26 (1)	11.04 (1)	82.741 7	63.285 7	70.714 2	72.093 9
11	54.20 (-1)	2.26 (1)	11.04 (1)	79.036 6	94.814 2	73.745 3	81.653 4
12	80.80 (1)	0.74 (-1)	11.04 (1)	76.104 6	48.678 8	42.354 7	54.376 9
13	50.00 (-1.316)	1.50 (0)	8.00 (0)	85.410 4	78.985 9	52.934 7	70.492 8
14	67.50 (0)	1.50 (0)	4.00 (-1.316)	74.613 7	63.891 0	59.105 7	65.193 7
15	67.50 (0)	1.50 (0)	8.00 (0)	89.697 5	71.709 2	76.547 3	79.040 9
16	54.20 (-1)	0.74 (-1)	4.96 (-1)	68.865 1	60.901 3	32.279 0	51.841 5
17	80.80 (1)	2.26 (1)	4.96 (-1)	76.206 3	59.341 3	69.715 4	68.550 4
18	67.50 (0)	1.50 (0)	8.00 (0)	83.062 2	72.554 4	77.694 5	77.762 7
19	67.50 (0)	1.50 (0)	8.00 (0)	81.615 4	72.524 1	82.843 5	79.379 3
20	80.80 (1)	0.74 (-1)	4.96 (-1)	67.136 7	46.488 2	23.083 2	43.319 6

次项拟合,多元线性回归拟合方程为 $Y=56.7-0.36A+15.07B+1.84C$ ($r=0.8077$, $P<0.01$),二次项回归方程为 $Y=-209.21+6.67A+39.68B+6.59C+0.077AB-0.026AC-0.59BC-0.051A^2-8.37B^2-0.13C^2$ ($r=0.9793$, $P<0.01$)。从拟合方程的相关系数可知,由于多元线性回归方程的 r 较低,自变量与因变量之间线性相关性较差,回归拟合度不佳,预测性较差,因此不适宜选用多元线性方程进行拟合;多元二次项拟合方程 r 较高,拟合效果较好,所以选用二项式方程进行拟合。

2.4.3 方差分析 由表5可知,多元二项式回归方程失拟检验不显著,说明未知因素对试验结果干扰很小,模型拟合检验高度显著,说明该方程与实际情况拟合很好,较好地反映了考察指标综合得分与乙醇体积分、提取时间和溶媒倍量的关系,为成功模型。提取时间对综合评分的影响具有高度显著性,二次项 A^2 、 B^2 影响显著,交互项按影响从大到小排序依次为 BC 、 AC 、 AB 。

2.4.4 效应面优化和预测 根据 Design-Expert 8.0.6,

表5 回归模型方差分析结果

Table 5 Results of variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	3 127.21	9	26.08	<0.000 1***
A	264.27	1	19.83	0.001 2**
B	1 503.33	1	112.83	<0.000 1***
C	359.16	1	26.96	0.000 4**
AB	4.83	1	0.36	0.560 7
AC	8.59	1	0.64	0.440 7
BC	14.72	1	1.10	0.318 0
A^2	575.10	1	43.16	<0.000 1***
B^2	162.57	1	12.20	0.005 8**
C^2	10.64	1	0.80	0.392 6
残差	133.24	10		
失拟项	106.77	5	4.03	0.076 0
纯误差	26.46	5		
总误差	3 260.45	19		

显著性差异,*极显著性差异

significant difference,*extremely significant difference

绘制综合得分与各自变量间的三维效应曲面图和等高线图(图 3),通过这些可以直观反映各因素交互作用对响应值的影响,并确定最佳提取条件。当乙醇体积分数在 50%~85%,提取时间在 0.5~2.5 h,乙醇用量在 4~12 倍,根据上述二次项回归方程,得出优化条件:乙醇体积分数 63.55%,提取时间 2.24 h,乙醇用量 12 倍,可预测出综合评分为 89.22 mg/g。鉴于实验操作的可行性,最优工艺条件定为 12 倍量 65%乙醇,每次提取 2 h。

2.4.5 验证试验 在选取的最佳提取工艺条件下,加热回流提取 3 份样品,结果五味子醇甲、芍药苷、橙皮苷平均转移率分别为 85.33%、88.77%、93.18%,综合评分分别为 88.37、88.98、88.80,均值为 88.72,综合评分与方程预测值比较,偏差率 [偏差率=(预测值-实测值)/预测值] 分别为 0.85%、0.24%、0.42%,综合评分 RSD 为 0.35%。表明所建立的数学模型具有良好的预测性,所选工艺条件稳定性和重现性好,且阴性无干扰。结果见表 6。

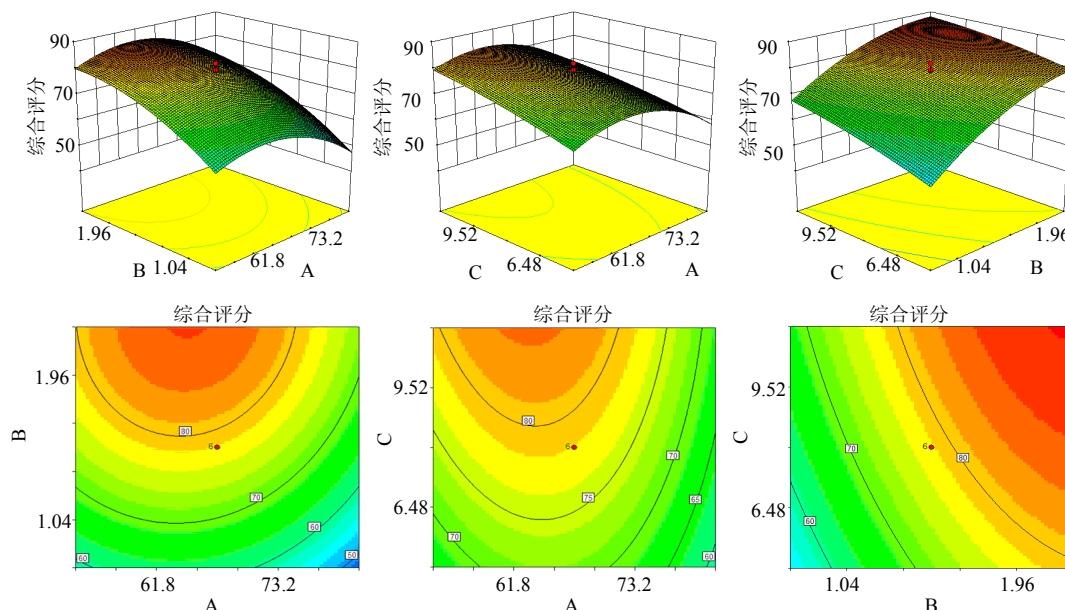


图 3 乙醇体积分数、提取时间和溶媒倍数对综合得分的三维效应面图和等高线图

Fig. 3 3D response surface and contour maps of ethanol volume fraction, extracting time, and solvent ratio on composite score

表 6 验证试验结果 (n = 3)

Table 6 Results of validation tests (n = 3)

序号	转移率 / %			综合评分	预测值 / %	偏差 / %	RSD / %
	五味子醇甲	芍药苷	橙皮苷				
1	84.82	88.61	92.85	88.37		0.85	
2	85.82	88.91	93.27	88.98	89.22	0.24	0.35
3	85.34	88.80	93.42	88.80		0.42	

3 讨论

星点设计-效应面优化法是近年来工艺及处方优选常用的方法,此方法特点鲜明、直观,具有较好的预测作用。进行提取工艺的优化时,各因素水平值和中心点的选取应是单因素试验中具有显著性差异的值,这样可以避免所选择的中心点由于偏离较优区域,而造成预测得到的最佳值点不是实际的最佳值点。把实际生产需求同选择星点设计中的因素水平范围及中心点值有机结合,才能更好地运用

这种方法对数据模型进行预测,找到最佳值点。从绘制的效应曲面图中还可直观地观察到各因素间的交互作用,为更好地对试验结果进行分析研究提供了数据参考。本实验中乙醇体积分数、提取时间和溶媒倍数均为连续性变量,而提取次数为非连续性变量,所以未在此方法中进行考察。

通过单因素试验考察了回流提取次数,发现提取 2 次已能将大部分有效物质提取出来,其中五味子醇甲、芍药苷、橙皮苷转移率的综合评分可达

80%以上,从实际大生产的角度考虑将提取次数定为2次。

五味子醇甲为五味子木质素类成分,脂溶性较强,单因素试验中其转移率并不随乙醇浓度的增大而提高,原因可能是五味子醇甲在五味子种仁内部,本身不易被提取出来,而高体积分数乙醇穿透能力较弱,60%~70%乙醇穿透力较强,能将五味子醇甲更好地提取出来。

本实验在单因素实验的基础上运用星点设计-效应面法得到乙醇体积分数、提取时间和溶媒倍量对芍药苷、橙皮苷、五味子醇甲3种成分转移率的效应趋势,对3种成分转移率进行权重分配得到综合评分,绘制以综合评分为响应值的响应面图和等高线图,通过对试验结果的分析比较得出最佳预测值,确定了最佳提取工艺条件。由于橙皮苷在2.5 h的提取率降低,提示加热提取时间过长,橙皮苷转移率下降,且为了符合实验的具体操作,将提取时间的最佳预测值2.24 h定为2 h,所以最佳提取工艺为12倍量65%乙醇提取2次,每次2 h,在此条件下转移率综合评分实测平均值为88.72%,与预测值基本一致,表明此方法预测效果良好、可靠。

参考文献

- [1] 史琳,王志成,冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 208-212.
- [2] 黄晓东,任旷. 五味子木质素研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2010, 31(1): 46-49.
- [3] 关亚会,贾洪文,王巍. 五味子木质素类药理作用的研究 [J]. 黑龙江中医药, 2008(6): 44-45.
- [4] 张安平,陈敏珠,徐叔云. 白芍总苷对大鼠睡眠节律的影响 [J]. 中国药理学通报, 1993, 9(6): 454.
- [5] Mao Q Q, In S P, Ko K M, *et al.* Peony glycosides produce antitumor pressant-like action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress and psychopharmacological effects on hypothalamic-pituitary-adrenal function and brain-derived neurotrophic factor [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(7): 1211-1216.
- [6] 苟凯红. 香芍颗粒治疗更年期综合症临床观察研究 [J]. 甘肃医药, 2013, 32(9): 675-677.
- [7] 山下善树. 芍药优良品种的研究 [J]. 国外医学: 中医中药分册, 1992, 14(5): 15.
- [8] 郑琳颖,潘竞镭,吕俊华. 白芍总苷对脂肪肝大鼠增强胰岛素敏感性及其抗脂肪肝作用 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(20): 2385-2390.
- [9] Garg A, Garg S, Zaneveld L J, *et al.* Chemistry and Pharmacology of The Citrus Bioflavonoid Hesperidin [J]. *Phytother Res*, 2001, 15(8): 655-669.
- [10] 吴伟,崔光华,陆彬. 实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): 530-533.
- [11] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用 [J]. 国外医学: 药学分册, 2000, 27(5): 292-298.
- [12] 林小玲,田成旺,张铁军. 星点设计-效应面法优选参芪消岩颗粒渗漉提取工艺 [J]. 中草药, 2013, 44(2): 430-433.
- [13] 吕维,吴恋,罗红丽,等. 星点设计-效应面法优化川芎提取工艺 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(1): 53-57.
- [14] 肖莉,张韵慧. 星点设计-效应面法优选南五味子的提取工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 22-25.
- [15] 陈卫卫,徐冬英,邓超澄,等. 星点设计-效应面法优选胃宁分散片的提取工艺 [J]. 中成药, 2009, 31(3): 39-43.
- [16] 刘艳杰,项荣武. 星点设计效应面法在药学试验设计中的应用 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2007, 24(6): 455-457.
- [17] 程龙琼,刘莉,周世玉,等. 五子衍宗丸中五味子醇甲的含量测定 [J]. 中国药业, 2007, 16(18): 37.
- [18] 仇雅静,朱梓文. HPLC法测定通肠理气合剂中芍药苷和橙皮苷的含量 [J]. 中国药事, 2012, 26(12): 1366-1368.