

星点设计-效应面法优选参芪消岩颗粒渗漉提取工艺

林小玲¹, 田成旺², 张铁军^{2*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 采用星点设计-效应面法, 优选参芪消岩颗粒的乙醇渗漉提取工艺条件。方法 以乙醇体积分数、乙醇用量和渗漉速度为考察因素, 姜黄素提取率和干膏得率为考察指标, 采用多元线性回归、二次及三次多项式拟合建立考察指标与考察因素之间的数学关系, 根据最佳数学模型描绘效应面, 再根据效应面优选最佳条件。结果 多元二项式模拟的模型最佳: $Y_1=70.54+12.62 X_1+0.61 X_2-0.052 X_3+0.32 X_1X_2-0.52 X_1X_3-1.12 X_2X_3-5.35 X_1^2-0.28 X_2^2+0.40 X_3^2$ ($r_1=0.873 5$, $P<0.01$), $Y_2=8.46-1.00 X_1+0.47 X_2-0.18 X_3+0.098 X_1X_2+0.24 X_1X_3-0.21 X_2X_3-0.32 X_1^2+0.17 X_2^2-0.081 X_3^2$ ($r_2=0.935 3$, $P<0.01$) 姜黄素提取率和干膏得率理论预测值与实测值偏差较小。最优提取工艺为 16 倍量 80%乙醇, 渗漉速度 13 mL/(min·kg), 姜黄素提取率 78.82%, 干膏得率 8.35%。结论 建立的模型可较好地描述该实验中因素与指标的关系, 模型具有良好的预测性。

关键词: 参芪消岩颗粒; 姜黄素; 星点设计; 效应面法; 提取工艺

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)05-0000-00

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.05.000

Optimization of percolation extraction for Shenqi Xiaoyan Granule by central composite design-response surface method

LIN Xiao-ling¹, TIAN Cheng-wang², ZHANG Tie-jun²

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

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

Key words: Shenqi Xiaoyan Granule; curcumin; central composite design; response surface method; extraction technology

参芪消岩颗粒为天津药物研究院在研的一种口服颗粒剂, 处方来源于天津中医药大学第一附属医院肿瘤科多年临床经验方消岩汤, 由黄芪、太子参、姜黄、郁金等 8 味药组成, 用于气血瘀滞型非小细胞肺癌的辅助治疗。姜黄中的姜黄素具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调血脂等药理作用^[1], 姜黄素抗肿瘤的高效、低毒、多靶点的特性已成为研究热点, 美国国立肿瘤所已将其列为第三代防癌药。本实验以姜黄素提取率作为指示性指标, 通过星点设计-效应面法优选处方中夏枯草、白花蛇舌草、姜黄、郁金 4 味药材的乙醇渗漉提取工艺。

在工艺优化和处方筛选过程中, 常需考察多个因素对结果的影响, 并对结果进行优化。国内常用均匀设计和正交设计进行优化, 但该两种方法的试

验精度不高, 建立的数学模型预测性较差。星点设计-效应面法采用非线性数学模型拟合, 在中心点进行重复性试验, 以提高试验精度, 预测值更接近真实值, 且试验次数也较少。星点设计-效应面法广泛应用于优化处方或制剂工艺^[2-4], 近几年用于中药提取工艺优化的报道也逐渐增多^[5-7], 目前多用于回流提取的工艺优化, 考察乙醇体积分数、回流时间及乙醇用量 3 个因素, 而回流次数对提取效果影响甚大, 因其为非连续性变量, 若作为考察因素不能使用星点设计-效应面法进行试验分析^[8]。因此运用星点设计-效应面法对回流提取工艺进行优化仍存在一定的缺陷。目前国内还未见采用星点设计-效应面法进行中药材渗漉提取工艺优化的相关报道。考虑到渗漉提取工艺的主要影响因素乙醇体积分数、乙

收稿日期: 2012-06-28

作者简介: 林小玲(1987—), 女, 天津医科大学生药学专业硕士研究生, 主要从事中药新药研发。Tel: (022)23006843 E-mail: tjkd.lxl@163.com

*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiejunzh2000@yahoo.com.cn

醇用量和渗漉速度皆为连续性变量, 对于变量是连续性的多因素试验分析, 使用星点设计-效应面法试验分析最佳^[8]。因此本实验引入星点设计-效应面法优选参芪消岩颗粒的乙醇渗漉提取工艺, 旨在对参芪消岩颗粒的提取工艺进行优化, 同时为探讨该法应用于传统药材提取工艺的可行性提供依据。

1 仪器与材料

Lab Alliance 高效液相色谱仪, Series II 一元泵系统, Lab Alliance 色谱工作站; Sartorius 电子天平(十万分之一, Sartorius 公司); Mettler Toledo 电子天平(万分之一, Mettler Toledo 公司); HH-4 恒温水浴锅(巩义市予华仪器有限公司); 电热恒温干燥箱(天津市实验仪器厂)。

姜黄素对照品(批号 110823-201004, 中国食品药品检定研究院), 乙腈(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 乙醇、冰醋酸(分析纯, 天津市凯信化学工业有限公司), 去离子水。

2 方法与结果

2.1 渗漉提取工艺

将各药材粉碎过 24 目筛, 称取处方量夏枯草、白花蛇舌草、姜黄、郁金共 50 g, 加入一定量一定体积分数乙醇浸泡 16 h 后, 进行渗漉, 得渗漉液。测定渗漉液中姜黄素的质量浓度, 计算其提取率。

姜黄素提取率 = 渗漉液中姜黄素的质量浓度 × 渗漉液体积 / 药材中姜黄素的总质量

2.2 干膏得率测定

精密吸取渗漉液样品适量, 至已恒定质量的蒸发皿中水浴蒸干, 按《中国药典》2010 年版一部附录 IX G 干燥失重法测定, 计算干膏得率。

干膏得率 = 干膏质量 / 药材总质量

2.3 姜黄素的 HPLC 法测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取姜黄素对照品 4.94 mg 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对照品储备液, 备用。

2.3.2 色谱条件 参照《中国药典》2010 年版一部姜黄项下测定方法。色谱柱为 Thermo Dim ODS 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-4%冰醋酸(48:52), 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 紫外检测波长为 430 nm。

2.3.3 线性关系考察 精密吸取一定量上述姜黄素对照品溶液, 按倍数关系稀释成 6 种不同质量浓度的溶液, 分别吸取 10 μL, 记录色谱峰积分面积。以姜黄素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, 得回归方程 $Y = 101.87X - 3.75$, $r = 0.9996$, 表明姜黄素在 4.94~19.76 μg/mL 线性关系良好。

2.3.4 供试品溶液的制备 精密吸取渗漉液 2 mL 置于 25 mL 量瓶中, 用相应体积分数乙醇稀释至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液, 即得。

2.3.5 测定法 分别精密吸取姜黄素对照品溶液和供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 采用外标法进行计算。色谱图见图 1。

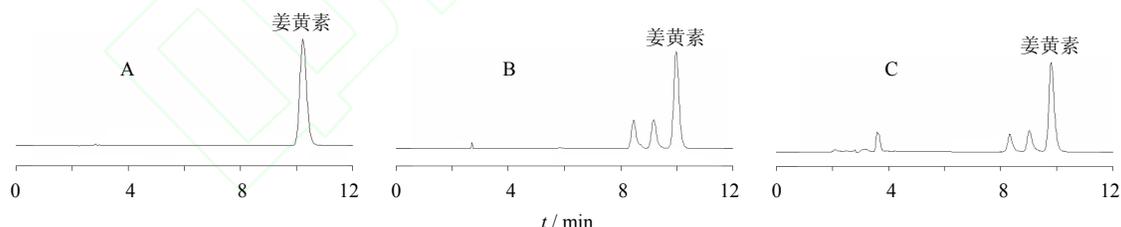


图 1 姜黄素对照品 (A)、姜黄药材 (B) 和渗漉液 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of curcumin reference substances (A), *Curcumae Longae Rhizoma* (B), and percolation solution (C)

2.4 姜黄药材中姜黄素的测定

按照《中国药典》2010 年版一部“姜黄”项下测定方法。通过回归方程计算得本批姜黄药材中姜黄素的质量分数为 1.04%。

2.5 星点设计试验及模型拟合

根据文献报道及预试验结果, 确定渗漉提取工艺的影响因素以及各因素所取的水平范围。本实验以姜黄素提取率和干膏得率为考查指标, 考察因素乙醇体积分数(X_1)、乙醇用量(X_2)和渗漉速度(X_3)。

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 1。按照上述提取与测定方法, 测定姜黄素提取率及干膏得率, 试验安排与结果见表 1。

以姜黄素提取率和干膏得率为因变量, 运用统计分析软件 Design-Expert 7 以各因变量分别对自变量进行多元线性回归、二项式和三项式拟合, 并以相关系数(r)和置信度(P)为模型判定标准, 选择有较大 r 值和较优 P 值对方程进行优化, 得多元

表 1 星点试验设计与结果

Table 1 Arrangement and results of central composite design

试验号	$X_1 / \%$	$X_2 / \text{倍}$	$X_3 / (\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})$	姜黄素提取率 / %	出膏率 / %
1	58.45 (-1)	11.69 (-1)	7.11 (-1)	53.39	9.26
2	58.45 (-1)	11.69 (-1)	12.89 (1)	58.67	8.48
3	58.45 (-1)	16.31 (1)	7.11 (-1)	57.77	9.95
4	58.45 (-1)	16.31 (1)	12.89 (1)	57.67	9.16
5	81.55 (1)	11.69 (-1)	7.11 (-1)	70.82	5.89
6	81.55 (1)	11.69 (-1)	12.89 (1)	73.11	6.90
7	81.55 (1)	16.31 (1)	7.11 (-1)	75.60	7.79
8	81.55 (1)	16.31 (1)	12.89 (1)	74.30	7.15
9	50.00 (-1.732)	14.00 (0)	10.00 (0)	22.81	9.12
10	90.00 (1.732)	14.00 (0)	10.00 (0)	86.55	6.29
11	70.00 (0)	10.00 (-1.732)	10.00 (0)	70.12	8.28
12	70.00 (0)	18.00 (1.732)	10.00 (0)	69.62	10.04
13	70.00 (0)	14.00 (0)	5.00 (-1.732)	73.90	8.79
14	70.00 (0)	14.00 (0)	15.00 (1.732)	69.92	8.05
15	70.00 (0)	14.00 (0)	10.00 (0)	70.22	8.70
16	70.00 (0)	14.00 (0)	10.00 (0)	68.63	8.71
17	70.00 (0)	14.00 (0)	10.00 (0)	68.33	8.24
18	70.00 (0)	14.00 (0)	10.00 (0)	70.42	8.60
19	70.00 (0)	14.00 (0)	10.00 (0)	71.22	8.20
20	70.00 (0)	14.00 (0)	10.00 (0)	74.40	8.30

线性回归方程： $Y_1 = 66.87 + 12.62 X_1 + 0.61 X_2 - 0.052 X_3$ ($r_1 = 0.7185$, $P < 0.01$), $Y_2 = 8.3 - 1.00 X_1 + 0.47 X_2 - 0.18 X_3$ ($r_2 = 0.7898$, $P < 0.01$); 二项式方程： $Y_1 = 70.54 + 12.62 X_1 + 0.61 X_2 - 0.052 X_3 + 0.32 X_1 X_2 - 0.52 X_1 X_3 - 1.12 X_2 X_3 - 5.35 X_1^2 - 0.28 X_2^2 + 0.40 X_3^2$ ($r_1 = 0.8735$, $P < 0.01$), $Y_2 = 8.46 - 1.00 X_1 + 0.47 X_2 - 0.18 X_3 + 0.098 X_1 X_2 + 0.24 X_1 X_3 - 0.21 X_2 X_3 - 0.32 X_1^2 + 0.17 X_2^2 - 0.081 X_3^2$ ($r_2 = 0.9353$, $P < 0.01$); 三项式方程： $Y_1 = 70.54 + 18.40 X_1 - 0.14 X_2 - 1.15 X_3 + 0.32 X_1 X_2 - 0.52 X_1 X_3 - 1.12 X_2 X_3 - 5.35 X_1^2 - 0.28 X_2^2 + 0.40 X_3^2 + 0.22 X_1 X_2 X_3 + 1.31 X_1^2 X_2 + 1.92 X_1^2 X_3 - 10.11 X_1 X_2^2$ ($r_2 = 0.8024$, $P < 0.01$); $Y_2 = 8.46 - 0.82 X_1 + 0.51 X_2 - 0.21 X_3 + 0.098 X_1 X_2 + 0.24 X_1 X_3 - 0.21 X_2 X_3 - 0.32 X_1^2 + 0.17 X_2^2 - 0.081 X_3^2 - 0.21 X_1 X_2 X_3 - 0.068 X_1^2 X_2 + 0.064 X_1^2 X_3 - 0.32 X_1 X_2^2$ ($r_2 = 0.8513$, $P < 0.01$).

多元线性回归和三项式各拟合方程的复相关系数均较低, 表示模型拟合度不高, 自变量与因变量之间线性相关性较差, 所以不宜用线性和三次项模型。而多元二项式回归各拟合方程复相关系数均较

高, 表明具体实验因素对效应值的影响不是简单的线性关系。最后选择多元二项式拟合模型为成功模型, 实测值和预测值基本吻合, 有较好的预测作用。

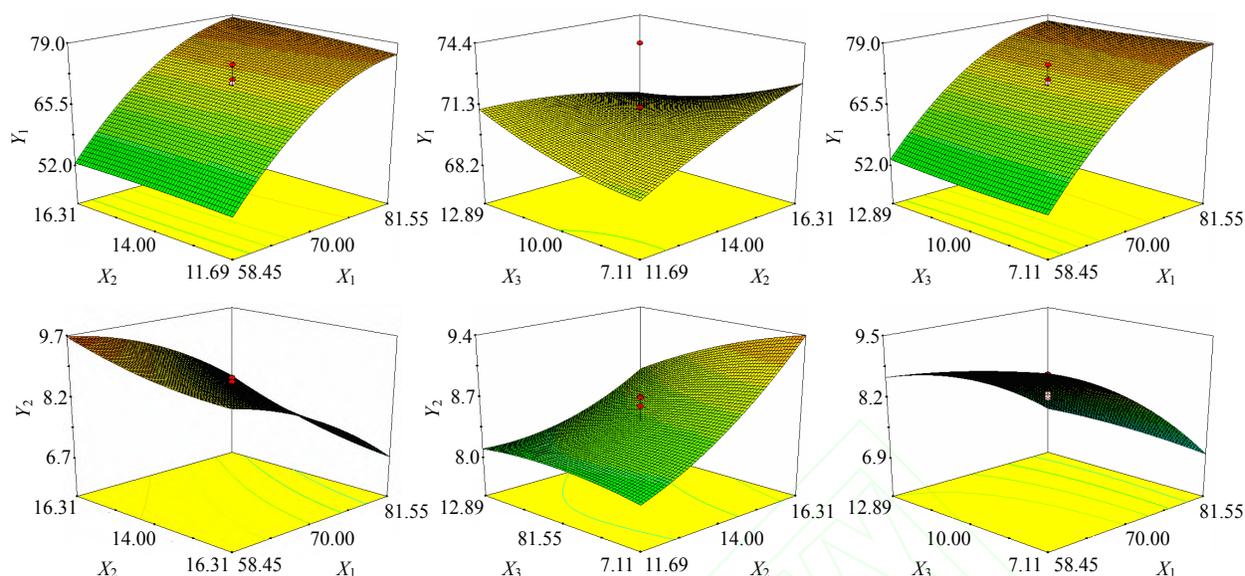
2.7 效应面优化与预测

根据优化后的二项式方程, 运用 Design-Expert 7 软件作三维效应面图 (图 2)。

当乙醇体积分数在 $50\% \leq X_1 \leq 90\%$, 乙醇用量在 $10 \text{ 倍} \leq X_2 \leq 18 \text{ 倍}$, 渗漉速度在 $5 \text{ mL}/(\text{min} \cdot \text{kg}) \leq X_3 \leq 15 \text{ mL}/(\text{min} \cdot \text{kg})$, 根据上述二次项回归方程, 计算出优化条件: $X_1 = 81.55\%$, $X_2 = 16.21 \text{ 倍}$, $X_3 = 13.57 \text{ mL}/(\text{min} \cdot \text{kg})$, 可预测出姜黄素最大提取率为 80.55% , 干膏得率为 8.04% 。考虑到实验操作的科学性, 最优工艺定为 16 倍量 80%乙醇, 渗漉速度 $13 \text{ mL}/(\text{min} \cdot \text{kg})$ 。

2.8 验证试验

根据最佳提取工艺条件再渗漉提取 3 份样品, 测定姜黄素提取率和干膏得率, 结果见表 3。姜黄素提取率分别为 78.59% 、 79.58% 、 78.29% , 干膏得率分别为 8.45% 、 8.42% 、 8.19% 。验证试验结果与方程预测值比较, 偏差 [偏差 = (预测值 - 实测值) /



X_1 -乙醇体积分数 / % X_2 -乙醇用量 / 倍 X_3 -渗漉速度 / ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$) Y_1 -姜黄素提取率 / % Y_2 -干膏得率 / %
 X_1 -ethanol concentration / % X_2 -volume of solvent / times X_3 -percolating speed / ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$)
 Y_1 -extracting rate of curcumin / % Y_2 -dry extract yielding rate / %

图 2 效应面图

Fig. 2 Response surface

表 3 验证试验实测值与预测值比较 ($n=3$)

Table 3 Comparison on measured and predicted values in verification test ($n=3$)

考察指标	实测值 / %	预测值 / %	偏差 / %
姜黄素提取率	78.82	80.55	2.15
干膏得率	8.35	8.04	-3.86

预测值]分别为 2.15%、-3.86%。

3 讨论

本实验采用星点设计-效应面法得出乙醇体积分数、乙醇用量、渗漉速度对姜黄素提取率和干膏得率的效应趋势,优化了参芪消岩颗粒的乙醇渗漉提取工艺。此外,还使用 $L_9(3)^4$ 正交设计法进行参芪消岩颗粒提取工艺筛选,优选提取工艺为 $X_1=90\%$, $X_2=16$ 倍, $X_3=9 \text{ mL}/(\text{min}\cdot\text{kg})$, 3 批验证试验得姜黄素提取率为 75.39%, 干膏得率为 6.37%。而星点设计法优选提取工艺为 $X_1=80\%$, $X_2=16$ 倍, $X_3=13 \text{ mL}/(\text{min}\cdot\text{kg})$, 3 批验证试验得姜黄素提取率为 78.82%, 干膏得率为 8.35%。

由试验结果可知星点设计优化的实测值与理论值相差不大,且与正交设计所得优化结果相比:二者所用溶剂量相等,但星点设计中乙醇的体积分数比正交设计低,渗漉速度也较快,且提取率也较正交设计高。原因可能是乙醇体积分数大,渗漉速度

慢,提取出的姜黄素以外的物质抑制姜黄素的渗出,使姜黄素提取率降低。再者星点设计在试验次数上并无显著增加,且在设定的水平范围内,得出的最优工艺不仅限于执行的水平点;采用非线性模型更接近客观实际。效应面三维图使因素对指标的影响趋势直观明了,实验精度更高。但优化工艺的姜黄素提取率在 80%左右,原因可能是药材中的其他物质对姜黄素的渗出有影响或姜黄素耐光、耐热性差^[9]导致。

参考文献

- [1] 罗廷顺,李洪文,刘正文,等.姜黄素的提取分离与药理作用研究进展[J].现代药物与临床,2011,26(2):102-107.
- [2] 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.
- [3] 张瑜,白颖.星点设计-效应面法优化盐酸青藤碱脉冲片处方的研究[J].中草药,2010,41(7):1088-1091.
- [4] 王博,任晓文,李洪起,等.星点设计-效应面法优化银杏酮酯包合物的制备工艺[J].中草药,2011,42(2):262-265.
- [5] 施俊辉,杨军宣,赵成城,等.星点设计-效应面法优化栀子的提取工艺[J].时珍国医国药,2011,22(3):667-669.
- [6] 王秋红,苏阳,吴伦,等.星点设计-效应面法优化

- 升麻提取工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 24-27.
- [7] 李攀登, 张崇禧, 李金玲, 等. 星点设计-效应面法优化刺五加叶提取工艺 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 1064-1068.
- [8] 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, 2007, 24(6): 455-457.
- [9] 柯铭清. 中草药有效成分理化与药理特性 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1982.

