

保心滴丸提取工艺优选

陈超¹, 周福军², 韩忠耀¹, 朱晓薇¹, 侯文彬^{2*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

[摘要] 目的: 优选保心滴丸的提取工艺。方法: 以丹酚酸 B 为检测指标, 采用正交试验优选丹参和山楂的乙醇回流提取工艺; 以阿魏酸和二苯乙烯苷为检测指标, 采用正交试验优选处方中三七等其余药材的乙醇渗漉提取工艺。结果: 保心滴丸最佳提取工艺为丹参、山楂加 6 倍量 70% 乙醇提取 3 次, 每次 1 h; 三七、首乌、制首乌、川芎采用渗漉提取, 10 倍量 60% 乙醇浸泡 18 h, 滴速 10 mL·min⁻¹·kg⁻¹。结果: 优选的保心滴丸提取工艺稳定可行, 可推广于工业化生产。

[关键词] 正交试验; 丹酚酸 B; 阿魏酸; 二苯乙烯苷; 渗漉提取

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0069-03

Optimization of Extraction Technology for Baoxin Dripping Pill

CHEN Chao¹, ZHOU Fu-jun², HAN Zhong-yao¹, ZHU Xiao-wei¹, HOU Wen-bin^{2*}

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300073, China;

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

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of Baoxin dripping pill. **Method:** Ethanol extraction technology of *Crataegus pinnatifida* and *Salvia miltiorrhiza* was optimized by orthogonal test with salvianolic acid B as detection index. With the content of ferulic acid and stilbene glucoside as index, orthogonal test was used to optimize percolation process of *Panax notoginseng* and other herbs from Baoxin dripping pill. **Result:** Optimum extraction process conditions were determined as follows: *C. pinnatifida* and *S. miltiorrhiza* was extracted 3 times with 6 times the amount of 70% ethanol, 1 h each time. *P. notoginseng* and other herbs were extracted by percolation technology, these herbs were soaked 18 h with 10 times the amount of 60% ethanol, dripping rate 10 mL·min⁻¹. **Conclusion:** This optimized extraction technology of Baoxin dripping pill was stable and feasible, it could be extended to industrial production.

[Key words] orthogonal test; salvianolic acid B; ferulic acid; stilbene glucoside; percolation extraction

保心滴丸源于保心片, 收载于 2010 年版《中国药典》, 由三七、丹参、川芎、山楂、制何首乌、何首乌 6 味药组成^[1], 主要用于治疗冠心病、心绞痛, 经多年临床实践证明疗效显著。但该制剂溶散时间较长, 服用剂量较大, 易吸潮, 不易存贮。本课题组采用固体分散技术将药材提取物制备成滴丸剂, 以提高药物稳定性, 增加生物利用度, 方便患者服用^[2]。

经过前期工艺筛选及相关文献报道^[3-4], 确定对丹参、山楂采用醇提, 三七、首乌、制首乌、川芎 4 味药采用渗漉法。本试验采用正交试验法对保心滴丸的提取工艺进行优选。

1 材料

丹参等药材(河北省安国市义通中药材有限公司, 批号均为 20100605, 经天津药物研究院周福军副研究员鉴定均为正品), Agilent1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 丹酚酸 B、阿魏酸、二苯乙烯苷等对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 111562-200908, 110773-200611, 110844-200908)其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 乙醇回流提取工艺优化

[收稿日期] 20111215(005)

[第一作者] 陈超, 硕士研究生, 从事中药新药、质量标准研究, Tel: 022-23006903, E-mail: cc1984@163.com

[通讯作者] * 侯文彬, 研究员, 硕士生导师, 从事中药及天然产物的研究与开发, Tel: 022-23006295, E-mail: houwb@tjipr.com

2.1.1 正交试验设计 以丹酚酸 B 含量、醇浸出物得率为考察指标,对乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间、提取次数 4 个因素进行考察,每个因素选取 3 个水平。按处方比例,称取丹参、山楂共 9 份,每份 99 g。按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,回收乙醇并转移至 500 mL 量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,即得供试品溶液。分别精密移取各试验号定容液 10 mL,置于干燥至恒重的蒸发皿中,105 °C 干燥 3 h 后移至干燥器中,放凉,迅速称重,计算出膏率。对丹酚酸 B 含量和出膏率进行综合评分^[5],进行直观和方差分析。丹酚酸 B 含量测定参考 2010 年版《中国药典》中丹参药材对丹酚酸 B 的含量测定方法进行^[6]。因素水平见表 1,试验安排见表 2,方差分析见表 3。

表 1 保心滴丸乙醇回流提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 加醇量 /倍	C 提取时间 /h	D 提取次数 /次
1	60	6	1	1
2	70	8	1.5	2
3	80	10	2	3

表 2 保心滴丸乙醇回流提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	丹酚酸 B 含量 /mg·g ⁻¹	浸膏 得率 /%	综合 评分
1	1	1	1	1	45.77	38.44	76.27
2	1	2	2	2	56.31	43.88	92.33
3	1	3	3	3	61.48	43.90	99.03
4	2	1	2	3	61.41	45.19	99.51
5	2	2	3	1	49.51	37.14	80.54
6	2	3	1	2	61.79	41.66	98.44
7	3	1	3	2	50.93	39.33	83.35
8	3	2	1	3	55.31	41.12	89.81
9	3	3	2	1	51.27	31.89	80.49
K_1	267.64	259.14	264.53	237.31			
K_2	278.48	262.67	272.33	274.12			
K_3	253.66	277.97	262.92	288.36			
R	8.27	6.28	3.13	17.02			

注:综合评分 = 丹酚酸 B 含量/61.79 × 80 + 醇浸出物得率/45.19 × 20。

表 3 乙醇回流提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	103.19	2	51.595	6.12	
B	66.81	2	33.405	3.96	
D	464.64	2	232.32	27.42	<0.05
C(误差)	16.87	2	8.435	1	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$, $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ (表 6 同)。

由直观分析结果可知,各因素对综合评分的影响大小顺序为 $D > A > B > C$, 优选提取工艺为 $A_2B_3C_2D_3$, 即加 10 倍量 70% 乙醇提取 3 次,每次 1.5 h。以极差最小的 C 因素为误差项进行方差分析可知, D 因素的影响具有统计学差异,其他 2 个因素的影响均无统计学差异,综合工业生产和节能降耗等方面考虑,最终确定最佳醇提工艺为 $A_1B_1C_1D_3$, 即加 6 倍量 60% 乙醇提取 3 次,每次 1 h。

2.1.2 验证试验 按处方比例称取药材 3 份,每份 198 g,按优选工艺条件进行验证试验,结果丹酚酸 B 平均含量为 60.63 mg·g⁻¹, RSD 1.60%; 平均浸膏得率为 43.75%, RSD 2.19%。表明优选的乙醇提取工艺条件稳定可靠。

2.2 渗漉提取工艺的优化

2.2.1 正交试验设计 以阿魏酸、二苯乙烯苷的含量和出膏率为指标,对乙醇体积分数、乙醇用量、浸泡时间、流速 4 个因素进行考察,每个因素选取 3 水平。按处方比例称取三七、首乌、制首乌、川芎等药材共 9 份每份 85.5 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,回收乙醇,转移至 500 mL 量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,即得供试品溶液。分别精密移取各试验号定容液 10 mL,置于干燥至恒重蒸发皿中,105 °C 干燥 3 h 后移至干燥器中,放凉,迅速称重,计算出膏率。对阿魏酸含量、二苯乙烯苷的含量和出膏率进行综合评分,进行直观和方差分析。阿魏酸及二苯乙烯苷的含量测定参考 2010 年版《中国药典》中川芎药材、何首乌药材对相关成分的含量测定方法进行^[6]。因素水平见表 4,试验安排见表 5,方差分析见表 6。

表 4 保心滴丸渗漉工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 乙醇用量 /倍	C 浸泡时间 /h	D 流速 /mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹
1	60	10	12	5
2	70	12	18	10
3	80	14	24	15

由以上结果可知,各因素对渗漉工艺影响程度依次为 $A > C > D > B$; 方差分析结果表明, A, C 对工艺的影响有显著性意义。综合成本、效率等考虑,最终确定最佳渗漉提取工艺为 $A_1B_2C_2D_1$, 即 10 倍量 60% 乙醇渗漉,浸泡 18 h,滴速 10 mL·min⁻¹·kg⁻¹。

表5 保心滴丸渗漉工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	阿魏酸 /mg·g ⁻¹	二苯乙 烯苷 /mg·g ⁻¹	浸膏 得率 /%	综合 评分
1	1	1	1	1	0.82	26.97	25.82	92.46
2	1	2	2	2	1.00	26.01	25.73	98.50
3	1	3	3	3	0.93	24.03	22.67	90.41
4	2	1	2	3	0.81	21.83	19.91	79.93
5	2	2	3	1	0.74	22.23	21.33	78.78
6	2	3	1	2	0.75	21.74	19.26	77.12
7	3	1	3	2	0.70	19.25	16.39	69.09
8	3	2	1	3	0.68	18.01	15.12	65.65
9	3	3	2	1	0.71	19.70	18.98	72.18
K ₁	281.37	241.48	235.22	243.42				
K ₂	235.82	242.93	250.61	244.71				
K ₃	206.93	239.71	238.28	235.99				
R	24.81	1.07	5.13	2.91				

注:综合评分 = 阿魏酸含量/1 × 40 + 二苯乙烯苷含量/26.97 × 40 + 醇浸出物得率/26.82 × 20。

表6 渗漉工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	939.16	2	469.58	541.62	<0.01
B	1.734	2	0.867	1	
C	44.208	2	22.104	25.495	<0.05
D(误差)	1.73	2	0.865		

2.2.2 验证试验 按处方比例称取药材3份,每份171g,按优选工艺条件进行验证试验,结果阿魏酸质量分数分别为1.01,0.96,0.98 mg·g⁻¹;二苯乙烯苷质量分数分别为27.11,26.58,26.27 mg·g⁻¹;浸膏得率分别为25.94%,25.12%,24.56%。表明正交试验优选的乙醇渗漉提取工艺条件稳定可靠。

3 讨论

丹参经回流提取,丹酚酸B提取率达90%,表明乙醇回流提取时温度对其含量影响不大。丹参、山楂醇提后出膏率较大,需经纯化工艺处理,才可滴制滴丸。三七、首乌、制首乌、川芎采用渗漉工艺提取,避免了挥发性成分和热不稳定成分的损失,提高了提取效率。本试验方法操作简便,溶剂污染小,生产成本低,适用于工业化生产。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:929.
- [2] 王存,赵双桅.中药滴丸剂的研究进展[J].江西中医学院学报,2008,20(5):98.
- [3] 朱晓晶,杨欣莹,李凤阁.正交试验法优选血府逐瘀滴丸的提取工艺[J].天津药学,2011(1):70.
- [4] 倪力军,史晓浩,高秀蛟,等.提取时间、溶剂对丹参提取物质量的影响研究[J].中成药,2003,25(10):780.
- [5] 金岩,张宇.正交设计法优选五苓滴丸的醇提取工艺[J].山西医药杂志,2010,39(10):984.
- [6] 中国药典.一部[S].2010:70,38,164.

[责任编辑 仝燕]