

正交设计法优选舒肤爽喷雾剂中 挥发油成分的 CO₂ 超临界萃取工艺

程艳芹*, 李明春, 李晓
(解放军第 401 医院, 山东 青岛 266071)

[摘要] 目的: 优选舒肤爽喷雾剂中蛇床子等 4 味药材的 CO₂ 超临界萃取工艺条件。方法: 以蛇床子素质量分数和总萃取得率为综合评价指标, 采用 HPLC 测定蛇床子素含量, 选取萃取压力、萃取温度及分离釜 I 温度为考察因素, 通过正交试验优选舒肤爽喷雾剂处方中 4 味药材的 CO₂ 超临界萃取工艺条件。结果: 萃取温度、萃取压力对萃取工艺有显著影响, 分离 I 釜温度无显著性影响。优选的萃取条件为萃取温度 50 ℃, 萃取压力 30 MPa, 分离釜 I 温度 50 ℃。结论: 优选的挥发油萃取工艺稳定可行, 可推广使用。

[关键词] 舒肤爽喷雾剂; CO₂ 超临界萃取工艺; 正交设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0063-03

[doi] 10.11653/zgsyfjxzz2013070063

Optimization of Supercritical CO₂ Fluid Extraction Technology for Volatile Oil Components in Shufushuang Sprays by Orthogonal Design

CHENG Yan-qin*, LI Ming-chun, LI Xiao
(No. 401 Hospital of PLA, Qingdao 266071, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize supercritical CO₂ fluid extraction (CO₂-SFE) conditions of four medicinal herbs in Shufushuang sprays including *Cnidium monnieri*, et al. **Method:** With the content of osthole and total extraction yield as comprehensive evaluation index, the content of osthole was determined by HPLC, CO₂-SFE of four medicinal herbs in Shufushuang sprays was optimized by orthogonal design with extraction pressure, extraction temperature and the separating kettle I temperature as factors. **Result:** Extraction pressure and temperature had significant effects on CO₂-SFE, whereas the separating kettle I temperature had no significant effects. Optimum CO₂-SFE technology was A₂B₁C₁, extraction pressure 30 MPa, extraction temperature 50 ℃, the separating kettle I temperature 50 ℃. **Conclusion:** Optimized extraction technology of volatile oil was stable and feasible, it could be used in industrial production.

[Key words] Shufushuang sprays; CO₂-supercritical fluid extraction technology; orthogonal design

舒肤爽洗剂是我院多年来用于治疗阴囊湿疹的纯中药复方制剂。由蛇床子、地肤子、苍术、花椒、苦参、黄柏、冰片等中药组成, 疗效显著。为方便患者使用及制剂的携带、储存, 现拟将其开发成喷雾剂。由于处方中蛇床子、地肤子、苍术、花椒中含大量的

挥发油等非极性成分^[1], 拟采用超临界 CO₂ 进行萃取。蛇床子素为君药蛇床子中含量较高的有效成分之一。现代药理研究证明, 蛇床子素具有抗菌、抗炎、止痒、镇痛^[2-3]等药理作用。针对复方中药萃取物成分的复杂性, 本实验以蛇床子素含量和总萃取得率的综合评分为指标, 采用正交试验优选处方中蛇床子等 4 味药材混合物的 CO₂ 超临界萃取工艺, 为舒肤爽处方的临床推广提供实验依据。

1 材料

HA221-40-11 型超临界萃取装置(江苏省南通

[收稿日期] 20121106(020)

[通讯作者] *程艳芹, 博士, 主管药师, 从事中药新制剂开发及质量研究, Tel: 0532-51870159, E-mail: chyq2003@163.com

市华安超临界萃取有限公司), BiSep™-1100 型高效液相色谱仪(上海通微分析技术有限公司), FA1604 型电子分析天平(上海衡平仪器仪表厂)。

蛇床子、地肤子、苍术、花椒均购自同仁堂药业有限公司青岛分公司, 经山东中医药大学张兆旺教授鉴定, 分别为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 的干燥成熟果实; 藜科植物地肤 *Kochia scoparia* (L.) Schrad. 的干燥成熟果实; 菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎; 芸香科植物花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟果实。蛇床子素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110822-200305), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为自制高纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超临界萃取工艺 称取处方量的蛇床子、地肤子、苍术和花椒, 置提取釜中加热加压循环提取, 提取完成后从解析釜 I 出料口出料, 得黄色膏状提取物, 计算总萃取得率(每 100 g 药材得到的提取物量)。

2.2 蛇床子素的含量测定^[4-5]

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取超临界萃取物约 0.1 g, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度。超声处理(250 W, 50 kHz) 30 min, 精密量取该溶液 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

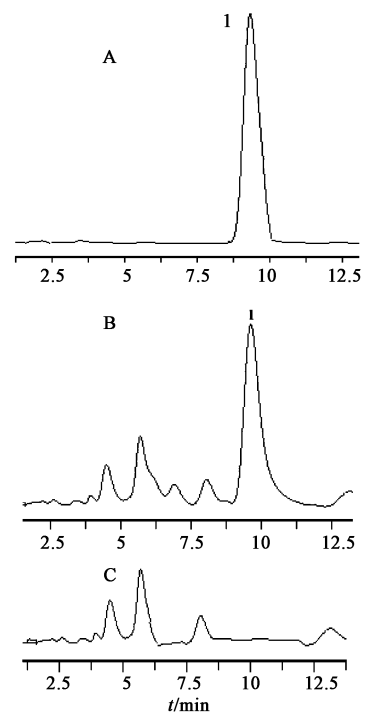
2.2.2 阴性供试品溶液的制备 将除蛇床子外的其他处方量药材粗粉按工艺进行超临界 CO₂ 萃取, 得超临界萃取物, 按 2.2.1 项下方法制备阴性供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取蛇床子素对照品适量, 加甲醇制成 0.94 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.4 色谱条件 Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(50:50), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 柱温为室温, 检测波长 322 nm。在此条件下, 样品峰得到良好分离, 缺蛇床子的阴性样品在蛇床子素峰处无干扰, 见图 1。

2.2.5 线性关系考察 分别精密量取上述对照品溶液 0.025, 0.05, 0.075, 0.10, 0.125 mL, 依次置 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按 2.2.4 项下条件进行测定。以对照品溶液的进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 5.607 \times 10^7 X - 3.416 \times 10^5$ ($r = 0.9999$), 表明蛇床子素在 0.094~0.470 μg 线性关系良好。

2.2.6 精密度的考察 精密量取同一对照品溶液, 重



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 蛇床子素

图 1 蛇床子 HPLC

复进样 6 次, 每次 20 μL, 测定峰面积。结果 RSD 0.8%, 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性考察 取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 各进样 1 次, 每次 20 μL, 测定峰面积。结果 RSD 1.2%, 说明供试品溶液至少在 12 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性考察 精密称取超临界萃取物 5 份, 每份约 0.1 g, 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.4 项下条件进行含量测定。结果蛇床子素平均质量分数 1.28%, RSD 1.11%, 说明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收考察 精密称取已知含量的超临界萃取物(1.36%) 6 份, 每份 50 mg, 分别精密加入蛇床子素对照品溶液(0.47 g·L⁻¹) 1.5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.4 项下条件进行含量测定。结果平均加样回收率 100.15%, RSD 1.03%, 说明该方法稳定可行。

2.2.10 样品测定 取供试品溶液, 分别进样 20 μL, 记录蛇床子素色峰面积, 外标一点法计算含量。

2.3 正交试验设计 准确称量处方量蛇床子、地肤子、苍术、花椒的混合物粗粉, 投入超临界萃取釜中进行萃取。在预试验基础上, 设定分离釜 I 压力 8 MPa, 分离釜 II 温度 35 °C, 压力 5.5 MPa, CO₂ 流

量 30 kg·h⁻¹。选取萃取压力、萃取温度及分离釜 I 温度为考察因素,以蛇床子素含量及总萃取得率的综合评分为指标,加权系数均为 0.5。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 蛇床子等药材的 CO₂超临界萃取工艺正交试验因素水平

水平	A 萃取温度 /℃	B 萃取压力 /MPa	C 分离釜 I 温度 /℃
1	45	20	50
2	50	25	55
3	55	30	60

表 2 蛇床子等药材的 CO₂超临界萃取工艺正交试验安排 (n=3)

No.	A	B	C	D	蛇床子素 质量分数 (空白) /%	总萃取得率/%	综合 评分
1	1	1	1	1	0.56	7.08	62.56
2	1	2	2	2	0.93	4.46	52.29
3	1	3	3	3	1.26	5.22	65.15
4	2	1	2	3	2.23	2.22	65.69
5	2	2	3	1	1.38	4.23	60.88
6	2	3	1	2	1.36	6.56	76.87
7	3	1	3	2	0.66	5.71	55.20
8	3	2	1	3	1.26	3.80	55.32
9	3	3	2	1	0.87	5.27	56.83
K ₁	180.00	183.45	194.75	180.27			
K ₂	203.45	168.49	174.81	184.36			
K ₃	167.35	198.86	181.24	186.16			
R	36.1	30.37	19.94	5.89			

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	223.56	2	111.78	36.85	<0.05
B	153.68	2	76.84	25.33	<0.05
C	69.00	2	34.50	11.37	>0.05
D(空白)	6.06	2	3.03	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

直观分析表明各因素对萃取工艺的影响程度依次为 $A > B > C$; 方差分析结果表明, A, B 因素对超临界萃取工艺的综合评判指标有显著性影响, C 因素则无显著影响。确定最佳工艺条件为 $A_2B_3C_1$, 即萃取温度 50 ℃, 萃取压力 30 MPa, 分离釜 I 温度 50 ℃。

2.4 验证试验 取处方量的同批药材 3 份, 按优选的提取工艺进行验证试验, 测定蛇床子素含量和总萃取得率。结果蛇床子素平均质量分数 2.34%, RSD 1.75%, 总萃取得率 5.31%, RSD 2.42%, 表明优选的工艺条件稳定可行。

3 讨论

本实验曾根据 2010 年版《中国药典》一部蛇床子素药材中“含量测定”项下条件, 采用甲醇和水作为流动相, 但所得的色谱峰分离度不好并有拖尾现象, 因此不适合本复方的分离。用乙腈和水为流动相后, 所得的色谱峰分离度和拖尾现象均得到改善。预试验发现当乙腈-水 (50:50) 时能较好地满足分离要求, 故本实验的色谱分离采用该条件。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 295.
- [2] 陈艳, 张国刚, 余仲平. 蛇床子的化学成分及药理作用的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(4): 256.
- [3] 马玉明. 蛇床子素的药理进展及剂型开发[J]. 中国现代应用药学, 2008, 2(15): 112.
- [4] 李明春, 梁东升, 李晓. 正交设计法优选蛇床子 CO₂ 超临界萃取工艺[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1753.
- [5] 张璐, 翁立冬, 刘莉, 等. 正交试验法优选蛇床子渗漉提取的工艺条件[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 12.

[责任编辑 全燕]