

正交试验法优化柴胡利胆颗粒的水提工艺研究

陈舒茵¹ 梁国成^{1,2} 唐友明¹ 梁春才¹ 黄小鸥¹ 冯文勇¹ 高春萍³ 黄敏³

(1.广西中医药大学附属瑞康医院, 广西南宁 530011; 2.广西大学, 广西南宁 530004;
3.广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023)

【摘要】为优化柴胡利胆颗粒的水提工艺,以干膏得量和总黄酮含量为指标,重点考察药材浸泡时间(h)、提取溶剂用量(倍)、提取时间(h)和提取次数(次)4个关键因素对该制剂在传统工艺条件下对水提工艺的影响。结果表明,优选的最佳水提取工艺为:加12倍量的水浸泡0.8h、提取2次、每次提取时间为2h;按处方10倍放大实验,在最佳水提工艺条件下,水提干膏平均得量为332.8566g(RSD=2.66%),平均总黄酮含量为1.25mg/g,(RSD=1.21%)。

【关键词】正交试验;柴胡利胆颗粒;水提工艺

【中图分类号】R284

【文献标识码】A

【文章编号】1008-1151(2019)05-0055-03

Optimization of Water Extraction Process of Chaihu Lidan Granules by Orthogonal Experiment

Abstract: To optimize the water extraction process of Chaihu Lidan Granules, taking dry extract yield and total flavonoid content as indexes, the effects of four key factors on the water extraction process of the preparation under traditional conditions were investigated, including soaking time (h), solvent dosage (times), extraction time (h) and extraction times (times). The results showed that the optimum water extraction process was as follows: adding 12 times of water, soaking for 0.8 hours, extracting twice and extracting for 2 hours each time; according to the 10 times enlargement experiment, under the optimum water extraction conditions, the average yield of water extract was 332.8566 g (RSD = 2.66%), and the average total flavonoid content was 1.25 mg/g (RSD = 1.21%).

Key words: orthogonal test; Chaihu Lidan Granules; water extraction process

柴胡利胆颗粒是由柴胡利胆汤改制而成,柴胡利胆汤是根据《伤寒论》中的经方“小柴胡汤”化裁而得的在临床上用于防治慢性胆囊炎的有效中药复方方剂,处方组成由柴胡、金钱草、黄芩、延胡索、大黄等9味中药组成,具有清肝胆、行气止痛等作用。经多年的临床应用观察和研究证实,柴胡利胆汤中配柴胡起着疏肝解郁和利胆止痛的作用,能够促进胆汁排泄;金钱草起清热解郁及利湿退黄的作用,黄芩能抑菌等,诸药合用,即能疏肝、利胆、和胃,有效防治慢性胆囊炎和缓解其临床症状^[1-3]。

中药防治疾病是中华民族上下几千年最宝贵的传承之一,以中医基础理论为指导,采用传统的水煎煮法煎煮中药煎液服用而防治疾病,故复方中药采用水煎煮法煎煮服用进而治病,具有深厚的理论支持。本试验以中医基础理论指导下采用传统工艺进行提取,以正交试验法研究优化影响提取效率的关键因素,保证制剂的提取效果,以更好地应用于临床,更有效的用于防治慢性胆囊炎。现就其提取工艺研究报

道如下,供学者们交流学习。

1 仪器与材料

1.1 仪器

电子天平(DT-100,北京光学仪器厂),分析天平(AL204,梅特勒-托利多仪器上海有限公司),数显电热恒温干燥箱(101-38,沪越科学仪器厂),紫外分光光度计(UV-2550,日本岛津),立式夹层锅(QJ,温州市半球轻工制药机械有限公司),真空干燥箱(ZK-32,湖南省衡阳市金一帆制药设备实业有限公司)。

1.2 材料

柴胡利胆颗粒药材(广西德润堂中药科技有限公司),黄芩苷对照品(110715-200514,中国药品生物制品检定所),乙醇(上海沃凯生物技术有限公司),无水乙醇(广东翁江化学试剂有限公司),纯化水(自制)。

【收稿日期】2019-03-12

【基金项目】广西高校中青年教师基础能力提升项目,2016年教育厅青年教师基础能力提升项目(KY2016YB207)。

【作者简介】陈舒茵(1982—),女,广西中医药大学附属瑞康医院主管中药师,硕士,研究方向为中药质量标准、中药及中药复方制剂质量究、药物临床试验研究。

【通信作者】梁国成(1982—),男(壮族),广西中医药大学附属瑞康医院主管中药师,硕士,研究方向为中药新剂型与新技术。

2 方法与结果

2.1 紫外法测定总黄酮含量

2.1.1 对照品溶液的制备

称取适量黄芩苷对照品,以无水乙醇配制成 0.1mg/mL 的溶液,备用。

2.1.2 供试品溶液的制备

取本品颗粒适量,精密称定为 18.0811g,以 50mL 乙醇(70%)回流提取 3 次,1h/次,合并提取液并蒸干,无水乙醇溶解于容量瓶(50mL)中并定容,再取 5ml 移至容量瓶(50mL)中,无水乙醇定容备用。

2.1.3 阴性样品溶液的制备

取本品缺黄芩颗粒样品,精密称定为 18.1073g,照上述方法制备阴性样品溶液,备用。

2.1.4 最大检测波长选择

取上述三种待测溶液,进行紫外全波长扫描(200nm~400nm),发现对照品溶液与供试品溶液在 278nm 处均有最大吸收,且阴性无干扰。

2.1.5 线性关系考察

精密取上述对照品溶液 1.0mL、2.0mL、4.0mL、6.0mL、8.0mL,分别稀释 10 倍后进行测定,以黄芩苷浓度(mg/mL)(X)对吸光度 A(Y)绘制标准曲线为 $y=1.5399x+1.3802$, $R^2=0.9948$ 。表明黄芩苷在浓度 0.2mg/mL~0.8mg/mL 范围内呈良好线性关系。

2.1.6 精密度和重复性试验

精密吸取供试品溶液连续测定 5 次,吸光度(A)的 RSD=2.07%,表明仪器精密度高。

2.1.7 稳定性试验

精密吸取供试品溶液,分别于 0h、2h、4h、6h、8h 测定,吸光度(A)的 RSD=1.84%,表明溶液在 8h 内有良好的稳定性。

2.1.8 重现性试验

取本品颗粒 5 份,按“2.1.2”项下平行制备供试品溶液并测定,结果 RSD=3.62%,表明方法的重现性良好。

2.1.9 回收率试验

取已知含量的本品颗粒 5 份,精密称定后分别精密加入黄芩苷对照品,照“2.1.2”项下制备供试品溶液进行测定,计算加样回收率,结构平均回收率为 96.07%,RSD=4.88%。

2.2 提取工艺操作

准确称取处方量的药材,加适量水浸泡,煎煮,滤取提取液,再加适量水,进行第二次煎煮(或依法进行第三次煎煮),滤过,合并煎煮液,浓缩至一定的相对密度(1.25~1.30)的浸膏,干燥,备用。

2.2.1 正交试验设计及结果

正交试验设计:影响提取工艺的因素主要有药材的浸泡

时间(h)、提取溶剂的用量(倍)、提取的时间(h)和提取的次数(次),故本次试验重点考察此 4 个关键因素,以干膏得量(g)和总黄酮含量(mg/g)为指标,进行正交试验 $L_9(3^4)$ 的考察。

表 1 因素水平表

因素	A	B	C	D
水平	溶剂用量(倍)	浸泡时间(h)	提取时间(h)	提取次数(次)
1	8	0.5	1.0	1
2	10	0.8	1.5	2
3	12	1.0	2.0	3

表 2 试验结果

试验号	A	B	C	D	干膏得量(g)	总黄酮含量(mg/g)
1	1	1	1	1	29.3828	1.18
2	1	2	2	2	28.4220	1.14
3	1	3	3	3	30.2290	1.12
4	2	1	2	3	31.1015	1.24
5	2	2	3	1	32.9747	1.27
6	2	3	1	2	30.3073	1.21
7	3	1	3	2	33.7010	1.21
8	3	2	1	3	32.8047	1.26
9	3	3	2	1	32.3506	1.15

表 3 直观分析结果

数据来源	A	B	C	D	
干膏得量	I	88.0338	94.1853	92.4948	92.4303
	II	94.3835	94.2014	91.8741	94.7081
	III	98.8563	92.8869	96.9047	94.1352
	R_i	3.6075	0.438167	1.6769	0.7593
总黄酮含量	i	3.44	3.63	3.65	3.60
	ii	3.72	3.67	3.53	3.56
	iii	3.62	3.48	3.60	3.62
	R_i	0.0933	0.0633	0.04	0.02

表 4 干膏得量方差分析结果

方差来源	方差平方和	自由度	均方	F 比	P	显著性
A	19.7168	2	9.8584	21.0668	$P<0.05$	*
B	0.3793	2	0.1897	0.4053		
C	5.0155	2	2.5077	5.3589		
D	0.9359	2	0.4680			

表 5 总黄酮含量方差分析结果

方差来源	方差平方和	自由度	均方	F 比	P	显著性
A	0.0134	2	0.0067	21.5714	$P<0.05$	*
B	0.0067	2	0.0033	10.7500		
C	0.0024	2	0.0012	3.892		
D	0.0006	2	0.0003			

注: $F_{0.01}(2,2)=99.0$; $F_{0.05}(2,2)=19.0$; $F_{0.10}(2,2)=9.0$

表 3 中,以干膏得量和总黄酮含量的直观分析可知:因素 A(提取溶剂用量)对提取效果影响最显著($P<0.05$),以干膏得量为指标时,各个因素对提取效果的影响次序为: $A>C>D>B$,且其中各因素影响次序为: $A_3>A_2>A_1$, $B_2>B_1>B_3$, $C_3>C_1>C_2$, $D_2>D_3>D_1$;以总黄酮含量为指标时,各个因素对提取效果的影响次序为: $A>B>C>D$,且其中各因素影响次序为: $A_2>A_3>A_1$, $B_2>B_1>B_3$, $C_1>C_3>C_2$, $D_3>D_1>D_2$;由以上结果可知,以总黄酮含量为指标是,结果均相差较小,故主要考虑以干膏得量为参考指标,根据各因素影响次序,最终提取工艺综合考虑应为 $A_3B_2C_3D_2$,即采用 12 倍量的水(浸泡 0.8h)、提取 2 次、每次提取时间 2h。

2.2.2 工艺验证

进行 10 倍量的放大试验验证:在正交试验的基础上,准确称取 10 倍处方量的药材(平行三批),加 12 倍量的水浸泡 0.8h,加热沸腾煎煮 2h,滤取提取液,再加 12 倍量的水,进

行第二次煎煮, 沸腾煎煮 2h, 滤过, 合并煎煮液, 浓缩至相对密度为 1.30 左右的浸膏, 于真空干燥箱下真空干燥, 备用。结果三批平均干膏得量为 332.8566g, RSD=2.66%, 平均总黄酮含量 1.25mg/g, RSD=1.21%。所得试验结果证实, 本次正交试验所优选的提取工艺稳定可行, 能够应用于柴胡利胆颗粒的实际生产, 为今后扩大化及产业化生产奠定基础 and 提供理论支持。

表 6 三批放大试验验证结果

批次	干膏得量 (g)	平均得量 (g)	RSD (%)	总黄酮含量 (mg/g)	平均得量 (mg/g)	RSD (%)
1	332.5990	332.8566	2.66	1.24	1.25	1.21
2	341.8435			1.27		
3	324.1272			1.25		

3 讨论

(1) 正交试验设计法是基于数理统计和概率学的一种统计学试验方法, 主要通过选取具有代表性的试验点、利用标准化的正交试验表安排而进行试验, 并对试验结果进行直观分析和方差分析, 从而快速地找出最佳的试验方案。与传统的试验设计相比较, 正交试验的试验过程只选取极具代表性的试验点进行试验, 因而能够最大程度地减少试验工作量, 节省时间, 已受到了广大学者的关注和欢迎, 并于多种学科和领域中广泛应用^[4-7]。本试验即基于正交试验法, 以提取的干膏得量为指标, 进行各影响因素的考察和评价, 最终得到

优化的最佳水提工艺, 试验结果和工艺条件稳定、可行, 达到了试验目的。

(2) 中药复方制剂用于防治疾病在我国拥有悠久的历史, 也取得了良好的成效。汤剂是中华民族防治疾病的传统剂型, 本试验即以此为基础, 遵循我国中医传统的用药习惯, 以 $L_9(3^4)$ 正交试验法优化本制剂的水提取工艺, 降低成本、提高效率, 既保留了传统工艺, 又高效、充分地保留了原方的基本药效成分, 发挥中医药防治疾病的优势, 为本制剂实际化扩大生产提供理论支持和基础。

【参考文献】

- [1] 张祥瑞. 柴胡利胆汤治疗慢性胆囊炎的临床疗效观察[J]. 中医临床研究, 2016, 8(22): 98-99.
- [2] 鲍红芳. 柴胡利胆汤治疗慢性胆囊炎的临床效果探析[J]. 中国卫生标准管理, 2015, 6(9): 97-98.
- [3] 姜义彬. 柴胡利胆汤治疗慢性胆囊炎 90 例临床观察[J]. 中国社区医师, 2014, 30(30): 111, 113.
- [4] 王玄静. 正交试验设计的应用及分析[J]. 兰州文理学院学报(自然科学版), 2016, 30(1): 17-22.
- [5] 刘瑞江, 张业旺, 阚崇炜, 等. 正交试验设计和分析方法研究[J]. 实验技术与管理, 2010, 27(9): 52-55.
- [6] 贺延新, 刘素玲, 李邦林, 等. 正交试验法优选红桃消肿颗粒水提工艺[J]. 中国药业, 2015, 24(8): 57-58.
- [7] 高祖新, 韩可勤. 医药应用概率统计[M]. 北京: 科学技术出版社, 2013.

(上接第 23 页)

表 9 沥青混合料浸水马歇尔试验结果

混合料	沥青类型	油石比 (%)	稳定度 (KN)	浸水稳定度 (KN)	残留稳定度 (%)
AC-13C (石灰岩)	70#基质沥青	4.8	13.62	12.06	88.5
	SBS 改性沥青	4.9	15.38	14.21	92.4
AC-13C (花岗岩)	70#基质沥青	5.0	12.59	9.87	78.4
	SBS 改性沥青	5.0	14.91	13.35	89.5

从表 9 可以看出, 无论是哪种沥青混合料, 在 60℃ 的水中浸泡 48 小时后的稳定度均小于仅浸水 30 分钟的稳定度, 充分表明沥青混合料在有水的环境中会产生水损害。采用基质沥青的花岗岩沥青混合料的水稳定性不满足规范中普通沥青混合料残留稳定度大于 80% 的要求, 改用了 SBS 改性沥青后, 其残留稳定度得到大幅度的提高, 满足规范中改性沥青混合料残留稳定度大于 85% 的要求, 充分说明改性沥青能在一定程度上改善沥青混合料的水稳定性。

5 小结

通过本次研究, 可以得出以下结论: (1) 花岗岩粗集料

的原材料性质符合规范要求。(2) 花岗岩与沥青的粘附性不好, 可以通过使用改性沥青和抗剥离剂来提高其粘附性。(3) 采用 SBS 改性沥青的花岗岩 AC-13C (油石比 5.0%) 沥青混凝土的水稳定性满足要求。对于大范围使用花岗岩作为沥青路面表面层的粗集料, 还需各方面的论证和进一步的试验研究。

【参考文献】

- [1] JTG E42-2005. 公路工程集料试验规程[S]. 北京: 人民交通出版社, 2005.
- [2] JTG E20-2011. 公路工程沥青及沥青混合料试验规程[S]. 北京: 人民交通出版社, 2011.
- [3] 廖玉春, 王元元, 朱平. 表面能理论评价沥青与石料抗水毁性能的研究[J]. 公路工程, 2013, 6: 222-225.
- [4] 黄旭. 高性能花岗岩沥青混凝土的制备与应用研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2010.