

正交试验法优选镇痛宁浸膏的制备工艺

黄金龙 张文女 周芝芳¹ 林志红¹ 应伟华¹ (金华 321053 浙江奥托康制药集团股份有限公司; ¹ 杭州 310013 浙江省医学科学院药物研究所)

镇痛宁是由三七、芦根、重楼和黄药子等七味中药组成,具有消肿止痛作用。在新药研制过程中,制备工艺学是药效学、临床研究及质量标准制定的基础。我们以渗漉法和回流法进行预试验,确定以渗漉法进行提取,选择影响渗漉效果的几个因素如渗漉速度,乙醇浓度,浸渍时间,溶媒量,用正交试验法以三七总皂甙为指标进行工艺研究,并经验证确定了最佳工艺。

1 仪器与试药

UV-210A 紫外分光光度计(日本岛津);人参皂甙 R_{g1} , R_{b1} 及三七皂甙 R_1 (中国药品生物制品检定所);香兰素,高氯酸,冰醋酸,石油醚,甲醇(均为分析纯);吸附树脂 D1c1 型(天津骨胶厂)。

2 实验方法与结果

2.1 正交试验设计:为考察渗漉速度,乙醇浓度,浸渍时间和溶媒量对镇痛宁提取的影响,采用正交试验设计法,三七总皂甙含量与浸膏得率综合计算为单位药材中三七总皂甙的量;并以期作为考察指标,用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验。其因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

因素	A(ml/min) 渗漉速度	B(%) 乙醇浓度	C(h) 浸渍时间	D(药材量的倍数) 溶媒量
1	1	60	2	6
2	3	70	4	7
3	5	80	6	8

2.2 提取工艺流程:依处方称取一定量生药饮片磨至粗粉,按正交设计表 $L_9(3^4)$ (见表 2),各实验序号项下实验条件进行渗漉,得渗漉液。合并渗漉液,滤过,减压浓缩,真空干燥,得浸膏,称重。

2.3 含量测定方法:参照文献^[1,2],采用高氯酸—冰醋酸比色测定法。

2.3.1 标准曲线绘制:精密称取人参皂甙 R_{g1} 对照品 12.5mg,置 5ml 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度。分别吸取该溶液 10,20,30,40,50,60,70 和 80 μ l,置磨口具塞试管中挥去溶剂,加新配制的 5% 香兰素冰醋酸溶液 0.2ml,高氯酸 0.8ml,于 60℃ 水浴中加热 15min,流水冷却,加冰醋酸 5ml 摇匀,于 560nm 波长处比色。

以吸光度为横坐标,人参皂甙 R_{g1} 的量(μ g)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 220.72x + 8.46$, $r =$

表 2 正交试验表及结果

因素 列号	A 1	B 2	C 3	D 4	试验结果 三七总皂甙(g)
1	1	1	1	1	1.746
2	1	2	2	2	1.966
3	1	3	3	3	1.639
4	2	1	2	3	1.671
5	2	2	3	1	1.770
6	2	3	1	2	1.232
7	3	1	3	2	1.496
8	3	2	1	3	1.829
9	3	3	2	1	1.375
K_1	5.351	4.913	4.807	4.891	
K_2	4.673	5.595	5.012	4.724	
K_3	4.70	4.246	4.905	5.139	
K_1	1.784	1.638	1.602	1.630	
K_1	1.558	1.865	1.671	1.575	
K_1	1.567	1.415	1.635	1.713	
R	0.226	0.45	0.069	0.138	

注次:主次顺序: B→A→D→C

0.9993。

2.3.2 样品测定:称取本品浸膏约 50mg,置 10ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度。精密吸取 4ml 挥去甲醇,残渣加蒸馏水 2ml 溶解,用石油醚提取(10ml×2),合并石油醚层用少量水洗,水层与洗液合并,在水浴上浓缩至近 1ml,加入净化柱中,待液面降至棉花层后,逐毫升加入蒸馏水共 10ml(流速 0.4ml/min),弃去水液,继用 70% 的乙醇 15ml 洗脱,收集乙醇溶液,水浴蒸干,残渣用甲醇分次溶于 2ml 量瓶中,放置过夜。精密量取上清液 100 μ l,照标准曲线绘制项下自“置磨口具塞试管中”起操作,依法测定吸收度,按人参皂甙 R_{g1} 标准曲线计算含量,并计算出单位药材中所含三七总皂甙的量,结果见表 2。

2.4 初步结果:从表 2 可以看出,影响三七总皂甙提取率的因素排列依次为 B>A>D>C,实验结果显示,本品用渗漉法提取时以 $A_1B_2C_2D_3$ 条件为最好。

2.5 验证试验:实验选择初步试验中较好的条件 $A_1B_2C_2D_2$ 和直观分析最优的条件 $A_1B_2C_2D_3$ 进行验证,

结果单位药材中三七总皂甙的量分别为 1.883g 和 2.128g,与直观分析结果一致,即渗漉速度为 1ml/min,乙醇浓度 70%,静置浸渍时间为 4h,加入 8 倍药材量的溶媒。

3 讨论

3.1 本文经薄层层析分析样品浸膏的成份,结果显示在供试品色谱中在与对照品(人参皂甙 R_{g1} , R_{b1} , 三七皂甙 R_1)色谱相对应位置上显相同颜色的斑点,而缺三七的阴性对照没有干扰,故选人参皂甙 R_{g1} 对照品来表征三七总皂甙的含量。

3.2 在正效试验优选渗漉提取工艺前,我们对渗漉法和回流法预先进行比较,结果两种方法制成的浸膏经含量测定,单位药材中含三七总皂甙的量分别为 1.234g 和 0.882g。而且,渗漉法设备简单,适于工业化生产。故我们选择渗漉法为提取方法。

参考文献

- 1 章观德.吸附树脂法测定三七及其制剂冠心宁总皂甙.中草药,1981,12(11):23.
- 2 章观德,等.人参的分析.药学学报,1980,15(3):175.