

正交试验法优选鲜益母草提取物制备工艺的研究

王文博, 杨波, 朱盛华(浙江大德药业集团有限公司, 浙江 义乌 322000)

中图分类号: R284.2

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)07-0609-03

鲜益母草提取物系由唇形科植物鲜益母草(*Leonurus japonicus* Houtt.)制备而成, 为浅绿色至绿色的粉末, 具有清热

凉血、化瘀调经之功能, 可作为胶囊剂、片剂等的原料。益母草中的有效成份为总生物碱^[1], 药典中各益母草制剂多采用

水提醇沉等传统工艺进行制备^[2],对其中的总生物碱提取不完全,鲜益母草提取物系由花前期益母草进行榨汁过滤、喷雾干燥而制成,基本保留了总生物碱的含量。现其制剂鲜益母草胶囊已上市^[3],为提高生产效率,我们尝试在喷雾干燥前进行低温减压浓缩,并采用正交试验法对其提取工艺进行优化,为鲜益母草提取物的大规模生产提供科学的实验依据。

1 材料与方法

岛津(CS-9000 型)薄层扫描仪。盐酸水苏碱对照品,由中国药品生物制品检定所提供。鲜益母草,由浙江大德药业集团有限公司鲜益母草种植基地提供。

2 方法与结果

根据鲜益母草提取物工艺的特点,本文采用正交试验设计法,以提取物粉末的总生物碱含量及外观进行综合评估。

2.1 提取物制备方法 取鲜益母草 50 公斤,经榨汁、过滤后,在真空浓缩罐中进行低温浓缩,真空度 >0.07MPa,真空浓缩后,立即进行喷雾干燥,莫诺泵控制流速为 500mL.min⁻¹,得粉末,即为鲜益母草提取物。

2.2 因素水平的确定 以综合评价为指标,因浓缩干燥为连续生产过程,同时重点考察提取过程中真空浓缩的时间,循环水加热温度及喷雾干燥器进风温度等 3 个因素,每个因素选择 3 个水平,按 L₉(3⁴) 正交表设计试验,因素水平见表 1。

2.3 总生物碱测定采用薄层扫描法^[4] 取提取物粉末 1 g,精密称定,置沙氏提取器中,加无水乙醇 60mL,于水浴上加热回流 6h,提取液蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至 5mL,作为

表 2 正交试验设计及结果表

试验号	因素				得粉量 (g)	生物碱含 量(mg/g)	生物碱总 含量(g)	含量 系数	外观 系数	综合 系数
	A	B	C	D						
1	1	1	1	1	782	35.3	27.60	0.80	0.80	1.60
2	1	2	2	2	968	34.6	33.49	0.97	0.80	1.77
3	1	3	3	3	960	35.8	34.37	1.00	0.60	1.60
4	2	1	2	3	988	34.9	34.48	1.00	0.80	1.80
5	2	2	3	1	912	33.8	30.83	0.89	0.60	1.49
6	2	3	1	2	759	35.4	26.87	0.78	0.60	1.38
7	3	1	3	2	925	36.4	33.67	0.98	0.40	1.38
8	3	2	1	3	824	35.7	29.42	0.85	0.40	1.25
9	3	3	2	1	937	35.1	32.89	0.95	0.60	1.55
K1	4.97	4.78	4.23	4.65						
K2	4.67	4.52	5.13	4.53						
K3	4.18	4.53	4.47	4.65						
$\overline{K1}$	1.66	1.59	1.41	1.55			$\Sigma = 13.83$			
$\overline{K2}$	1.56	1.51	1.71	1.51						
$\overline{K3}$	1.39	1.51	1.49	1.55						
r	0.26	0.09	0.30	0.04			CT = 21.24			

表 1 因素水平表

因素	A 浓缩时间(min)	B 加热温度(℃)	C 进风温度(℃)	D
水平 1	20	60	200	
水平 2	40	70	175	
水平 3	60	80	150	

供试品溶液。另取盐酸水苏碱对照品,加甲醇制成 5mg.mL⁻¹的溶液,作为对照品溶液;精密吸取上述供试品溶液 5μL、对照品溶液 2μL 与 4μL,分别交叉点于同一 0.5% 羧甲基纤维素钠制备的硅胶 G 薄层板上,以正丁醇—盐酸—水(4:1.5:0.5)为展开剂,层析缸预平衡 20 min,上行展开 12cm,取出晾干,喷以改良碘化铋钾试液,在薄层上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶布固定,照薄层扫描法(《中国药典》2000 年一部附录 VIB)进行扫描,波长:λ_s = 510 nm,λ_R = 660 nm 测量供试品吸收度分值与对照吸收度积分值,计算,即得。每 g 含生物碱以盐酸水苏碱计不得低于 23 mg。

2.4 评价方法 因提取物的绿色性状与生物碱含量均为重要指标,且浓缩对性状有一定的影响,故根据产量与质量的综合关系,评定标准如下:生物碱总含量以各试验中总量最高者作为 1.00 分,其余试验计算其百分率,作为含量系数。外观系数制定标准如下:0 分为外观不合格品,颜色为焦黄色、褐色等;0.4 分为褐绿色;0.6 分为黄绿色或浅绿色;0.8 绿色;再以两者系数相加进行综合评估。

2.5 正交试验设计及结果 9 批鲜益母草提取物的正交试验数据的直观分析见表 2,方差分析见表 3。

表3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
A	0.105	2	0.0524	11.95	<0.05
B	0.014	2			
C	0.143	2	0.0713	16.26	<0.05
D	0.003	2			
误差(B + D)	0.018	4	0.0044		

注： $F_{1-0.05}(2,4) = 6.94$ ； $F_{1-0.01}(2,4) = 18.00$

2.6 结果分析 从表2及3可知,3种因素的影响程度依次为C>A>B,其中C与A因素的影响均有显著性意义,说明浓缩时间与喷雾干燥的进风温度对工艺影响较大;而B与D的总和低于C与A,说明加热时间对结果影响不大,作为误差进行分析。因此最佳工艺为A₁B₁C₂。2.7 优先工艺条件的重复性试验 为验证上述工艺的稳定性,另取3份50公斤鲜益母草,按最佳工艺A₁B₁C₂操作,即浓缩时间为40分钟,真空浓缩温度为60℃,进风温度为175℃,进行3次重复性试验,结果见表4。

表4 重复性试验

试验号	得粉量 (g)	生物碱 含量 (mg/g)	生物碱 总含量 (g)	含量 系数	外观 系数	综合 系数	$\bar{X} \pm S$	RSD (%)
1	953	35.2	33.55	0.97	0.8	1.77		
2	962	34.8	33.48	0.97	0.8	1.77	1.79 ± 0.03	1.7
3	993	35.6	35.35	1.03	0.8	1.83		

3 小结与讨论

3.1 本实验通过正交试验法对鲜益母草提取物的工艺进行优选,以一定量鲜益母草所制成的鲜益母草提取物的生物碱总量与外观性状作为综合评价指标,优选出最佳提取工艺条件为A₁B₁C₂,按此条件进行重复性试验,结果生物碱总得率高,外观性状良好,符合制剂中间品要求。

3.2 正交试验中其它影响因素对得率与性状均有影响,如鲜益母草药材的生物碱含量,真空度,及风压,出风温度等,因此,在试验过程中进行了严格控制,如鲜益母草药材采用同一种植地块的药材,真空度与风量均保持相对稳定,使结果具有可比性。

3.3 因素C水平1中,即进风温度较低时,对得粉率影响较大,与浓缩液未能充分干燥、结块现象严重有关,调节出风量,仍出现结块现象。而温度较高,可能出现部分粉末焦化现象,对得率与外观性状亦有一定影响,因此,选择适宜的温度至关重要。

参考文献

[1] 李 万,蔡亚玲. 益母草总生物碱的药理实验研究. 华中科技大学学报(医学版),2002,31(2):168.

[2] 中国药典2000年版一部. 564-566.

[3] 杜双有,杨明华. 从鲜益母草胶囊的研究制谈中药鲜品的开发. 中国中药杂志,2002,27(10):803.

[4] 虞和永,何 翱,陈 仙. 鲜益母草胶囊中水苏碱的含量测定. 中国中药杂志,2002,27(2):113.

收稿日期:2005-02-16