

混合均匀试验优选消脂保肝胶囊中药材的提取工艺[△]

张振巍*,李月梅#,许真真(解放军第155中心医院,河南 开封 475003)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2913-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.12

摘要 目的:优选消脂保肝胶囊中药材的提取工艺。方法:以出膏率和总蒽醌含量为评价指标,以加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素,采用 $U_6(6 \times 3^2)$ 混合均匀设计优选消脂保肝胶囊中药材的提取工艺。结果:最佳提取工艺为药材加18倍量水,煎煮3次,每次3 h。结论:所选工艺合理、稳定,可用于消脂保肝胶囊中药材的提取。

关键词 消脂保肝胶囊;总蒽醌;混合均匀试验

Optimization of the Extraction Technology of Xiaozhi Baogan Capsule by Mixing Homogeneous Design

ZHANG Zhen-wei, LI Yue-mei, XU Zhen-zhen (No. 155 Central Hospital of PLA, Henan Kaifeng 475003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Xiaozhi baogan capsule. METHODS: The extraction technology of Xiaozhi baogan capsule was optimized by $U_6(6 \times 3^2)$ mixing homogeneous design with the yield of extract and the content of total anthraquinone as index using amount of added water, decoction time and decoction times as factors. RESULTS: The optimal technology was as follows: adding 18-fold water, decocting for 3 times, lasting for 3 h each time. CONCLUSIONS: The optimum process is reasonable, stable and suitable for the extraction of Xiaozhi baogan capsule.

KEY WORDS Xiaozhi baogan capsule; Total anthraquinone; Mixing homogeneous design

近年来,随着人们生活水平的提高和生活方式的改变、高脂及高热量食品的大量摄入、运动锻炼的减少,脂肪肝发病率呈上升趋势。因此,寻求有效治疗脂肪肝的药物显得尤为重要。中医认为,脂肪肝多由饮食不节、过食肥甘导致脾胃受损、痰浊内停、瘀血阻络、肝失调达、阻滞肝络而成。消脂保肝

胶囊来源于我院多年使用的协定方,由虎杖、山楂、决明子等7味药材组成,用于治疗脂肪肝、高血脂伴有肝胆湿热及湿痰互结等证,治疗效果显著。在此处方中,虎杖、山楂为君药,决明子为臣药,总蒽醌类成分为其主要活性成分,因此笔者从活性组分的角度出发,以大黄素为标示物,考察总蒽醌类化合物的

率的权重系数分别定为0.4、0.4、0.2,使优选出的工艺更加合理。

根据《中国药典》和文献^[1],笔者曾以275 nm为检测波长,甲醇-水(15:85, V/V)为流动相检测红景天苷。结果,受该波长检测响应值限制,制备的样品溶液浓度较高,检测酪萨维时会使样品中酪萨维和干扰成分不能达到有效分离,而且,在此检测条件下若色谱柱长期使用,柱效略微降低,会导致红景天苷与其他组分不能达到基线分离。又有文献报道^[2],红景天苷在223 nm波长处吸收明显高于在275 nm波长处,故笔者采用敏感度更高的223 nm波长进行检测,以减少供试品的取样量,降低样品浓度,使酪萨维达到理想的分离效果。经摸索,选用乙腈-水(7:93, V/V)作为流动相,红景天苷与其他杂质峰能完全分离,峰形对称,并且长期检测红景天苷时色谱柱均能保证分离度>1.5。综合考虑,最终确定以223 nm为检测波长、乙腈-水(7:93, V/V)为流动相检测红景天苷。

参考文献

- [1] 新疆维吾尔自治区食品药品监督管理局.新疆维吾尔自治区维吾尔药材标准:第1册[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,2010:201.
- [2] Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(7): 481.
- [3] Ma CY, Tao GJ, Tang T, et al. Preparative separation and purification of rosavin in *Rhodiola rosea* by macroporous adsorption resins[J]. *Sep Purif Technol*, 2009, 69(1):22.
- [4] 陈小明,徐超群.红景天中红景天苷的提取工艺研究[J]. *华西药学杂志*, 2010, 25(3):329.
- [5] 宋薇,石晓峰,张瑞堂,等.HPLC法测定复方红景天口含片中红景天苷和酪醇的含量[J]. *中国药房*, 2011, 22(7): 621.
- [6] 文萍,余良忠,李晶.HPLC测定景天祛斑胶囊中红景天苷的含量[J]. *中成药*, 2008, 30(2):299.

(收稿日期:2012-08-30 修回日期:2012-10-27)

[△]基金项目:济南军区后勤科研计划项目(No.CJN10L067)

*药师。研究方向:中药新药及质量标准。E-mail: zhenwei_981@163.com

#通信作者:副主任药师。研究方向:药品管理和中药制剂研发。电话:0378-3958820。E-mail: lym155yy@163.com

含量;从临床用量角度出发,对出膏率进行分析,为消脂保肝胶囊的进一步研究提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

AB135-S 双量程电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);UV-2010PC 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);AS10200ADT 型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,功率:800 W,频率:40 kHz);DZTW 型调温电热套(北京市永光明医疗仪器厂)。

1.2 试剂

大黄素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110756-200110);甲醇(郑州派尼化学试剂厂,批号:20120703);醋酸镁(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20120110)。

1.3 药材

方中各药材均为市售,经解放军第155中心医院石磊教授鉴定均符合2010年版《中国药典》(一部)的规定。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备工艺考察

2.1.1 水浴温度的考察 精密量取处方提取液10 ml,加纯化水定容至100 ml的量瓶中,再精密量取10 ml置于100 ml烧杯中,加稀盐酸10 ml,分别于60、70、80、90℃水浴保温30 min,放至室温,用少量水冲洗至125 ml分液漏斗中,再分别用10、10、5、5 ml氯仿萃取,合并氯仿萃取液于蒸发皿中,80℃水浴挥干,用0.5%醋酸镁甲醇溶液溶解,定容至10 ml量瓶中,在200~700 nm波长范围内进行全波段扫描,选取其吸光度最大时的温度作为最佳水浴温度。结果,温度达到80℃时,吸光度达到最大值,故选择水浴温度为80℃。水浴温度的考察结果见图1。

2.1.2 水浴时间的考察 按“2.1.1”项下方法试验,在80℃分别保温15、30、60、90 min,在200~700 nm波长范围内进行全波段扫描,选取其吸光度最大时的时间作为最佳水浴时间。结果,水浴30 min时,吸光度达最大值,故选择最佳水浴时间为30 min。水浴时间的考察结果见图2。

2.1.3 加酸量的考察 按“2.1.1”项下方法试验,分别加入稀盐酸5、10、15、20 ml,80℃水浴30 min,在200~700 nm波长范围内进行全波段扫描,选取其吸光度最大时的加酸量作为最佳用量。结果,加入10 ml稀盐酸与15 ml稀盐酸差别不大,因此以加入稀盐酸10 ml为最佳用量。加酸量的考察结果见图3。

2.1.4 加酸量、萃取次数、氯仿用量的考察 按“2.1.1”项下方法试验,分5组(第1组:10、5 ml;第2组:10、10 ml;第3组:10、10、5 ml;第4组:10、10、5、5 ml;第5组:10、10、5、5、5 ml)分别加入氯仿,在200~700 nm波长范围内进行全波段扫描,选取其吸光度最大时的萃取次数和氯仿用量作为最佳选择。结果,选择第4组方法进行萃取时,吸光度达最大值,故最佳萃取次数为4次,用量分别为10、10、5、5 ml。萃取次数和氯仿用量的考察结果见图4。

2.2 总蒽醌含量的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品3.10 mg,置25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀后加入0.5%醋酸镁甲醇溶液显色,即得质量浓度为0.124 mg/ml的大黄素对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取处方提取液10 ml,加纯

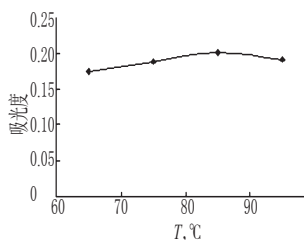


图1 水浴温度考察

Fig 1 The temperature of water bath

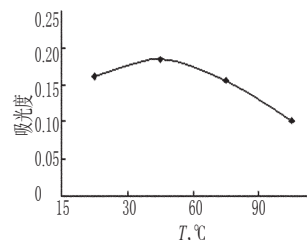


图2 水浴时间考察

Fig 2 The time of water bath

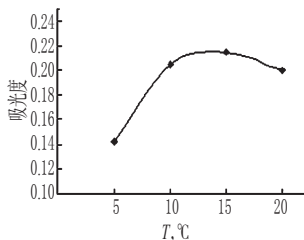


图3 加酸量考察

Fig 3 Amount of added acid

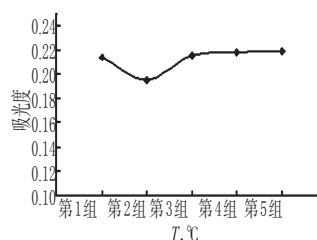


图4 萃取次数及氯仿用量考察

Fig 4 Extraction times and amount of chloroform

化水定容至100 ml量瓶中,再精密量取10 ml,置100 ml烧杯中,加稀盐酸10 ml,于80℃水浴保温30 min后放至室温,用少量水冲洗至125 ml分液漏斗中,再分别用10、10、5、5 ml氯仿萃取,合并氯仿萃取液于蒸发皿中,80℃水浴挥干,用0.5%醋酸镁甲醇溶液溶解,并定容至10 ml量瓶中,即得^①。

2.2.3 空白溶液的制备 精密量取10 ml纯化水,置于烧杯中,加入稀盐酸10 ml,按“2.2.2”项下方法制备空白溶液。

2.2.4 最大吸收波长的选择 精密量取对照品溶液、供试品溶液、空白溶液适量,采用紫外-可见分光光度计在190~800 nm波长范围内全波段扫描。结果,供试品在与对照品相应波长处有相同的吸收峰出现,而空白溶液在300 nm波长后基本无吸收;加入显色剂的对照品溶液最大吸收波长均由431 nm向512 nm移动,而供试品溶液在未加入显色剂时没有明显的吸收峰存在,加入显色剂后在512 nm波长处有最大吸收,故选择512 nm为最大吸收波长。紫外吸收光谱见图5。

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取大黄素对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,置10 ml量瓶中,于512 nm波长处测定吸光度(A)。以A为纵坐标,大黄素进样量(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $A=24.022x-0.138$ ($r=0.9998$, $n=5$)。结果表明,总蒽醌(以大黄素为标示物)进样量在12.4~62.0 μg范围内与吸光度呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度的试验 取“2.2.1”项下对照品溶液适量,在512 nm波长处测定吸光度,连续测量6次。结果, $RSD=0.49%$ ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 精密量取提取液10 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于0、2、4、8、12、24 h在512 nm波长处测定吸光度。结果, $RSD=1.67%$ ($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.2.8 重复性试验 精密量取同一提取液适量,共6份,在512 nm波长处测定吸光度。结果,每1 g提取溶液中含大黄酸0.035 2 mg, $RSD=0.94%$ ($n=6$),表明该方法重复性良好。

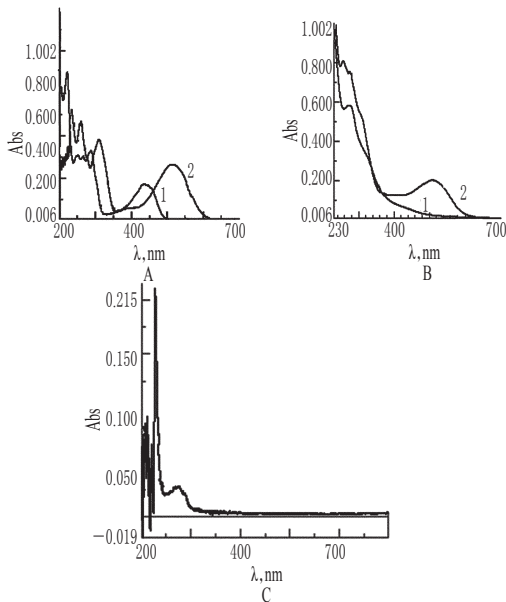


图5 紫外吸收光谱

A. 大黄素对照品; B. 供试品; C. 空白溶液

Fig 5 UV absorption spectrum

A. emodin control; B. test sample; C. blank solution

2.2.9 加样回收率试验 精密吸取已知总蒽醌含量的提取液9份,每份5 ml,再精密加入适量对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在512 nm波长处测定吸光度,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery tests

编号	样品量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	\bar{x} , %	RSD, %
1	17.24	12.4	29.29	97.18		
2	16.85	12.4	28.75	95.97		
3	17.34	12.4	29.42	97.42		
4	17.08	24.8	41.27	97.54	97.55	0.90
5	16.69	24.8	40.70	96.81		
6	16.92	24.8	41.19	97.86		
7	17.69	37.2	54.02	97.66		
8	17.82	37.2	54.61	98.90		
9	17.83	37.2	54.5	98.58		

2.3 混合均匀试验优选提取工艺^[2]

2.3.1 试验设计 根据预试验和笔者经验,选择加水量(X_1)、煎煮次数(X_2)、提取时间(X_3)为考察因素,每个因素选取3~6个水平。由于各因素水平数不相同,故采用 $U_6(6 \times 3^2)$ 混合均匀试验设计,经过DPS7.05数据处理软件对均匀试验设计进行中心化偏差分析($CD=0.3634$),采用优化后的混合均匀设计表进行提取工艺分析($CD=0.1786$),优化过程主要是降低各因素水平间的相关性,以降低数据分析误差。采用DPS7.05和SPSS18.0数据处理软件进行统计、分析,建立数据模型、优化试验参数。因素与水平见表2。

2.3.2 混合均匀试验结果 取处方量药材共81 g,水浸泡30 min后按试验安排煎煮。按下式计算出膏率(Y_1): $Y_1=(VW_1/20W) \times 100\%$ (式中, V 为每份处方提取液总体积, W_1 为20 ml提取液中干浸膏质量, W 为每份处方的总质量),并按“2.1”项下方法测定总蒽醌含量(Y_2)。混合均匀试验结果见表3。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	加水量,倍	煎煮次数,次	提取时间,h
1	8	1	1
2	10	2	2
3	12	3	3
4	14		
5	16		
6	18		

表3 混合均匀试验结果

Tab 3 Results of mixing homogeneous design

试验号	X_1 ,倍	X_2 ,次	X_3 ,h	Y_1 , %	Y_2 , mg/g
1	8	2	2	20.78	0.069 4
2	10	3	3	26.25	0.110 6
3	12	1	1	16.44	0.036 1
4	16	1	3	20.28	0.051 5
5	14	3	1	26.07	0.088 3
6	18	2	2	25.24	0.078 7

2.3.3 数据处理与模型拟合 为消除各试验数据的量纲差异,首先对试验数据进行“归一化”处理,通过DPS7.05数据处理软件对试验数据进行高阶拟合,采用二项式拟合时,数据相关系数显示模型为线性关系,故采用带交互作用的线性逐步回归进行拟合分析。各因素水平处理结果见表4。

表4 各因素水平处理结果

Tab 4 Results of factors and levels processing

因素	Y_1			Y_2		
	偏相关	t	P	偏相关	t	P
X_1	-0.997 8	15.120 5	0.004 3**			
X_2	-0.996 5	11.970 0	0.006 9**	-0.897 9	2.039 7	0.178 2
X_3	0.999 6	34.705 3	0.000 8**	0.981 8	5.174 3	0.035 4**
X_1X_2	0.998 9	21.630 2	0.002 1**	0.977 0	4.579 9	0.044 5**
X_2X_3				-0.973 7	4.274 5	0.050 0*

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

方程拟合结果为 $Y_1=22.968 2-1.051 2X_1-5.401 2X_2+2.505 0X_3+0.750 0X_1X_2$ ($r=0.999 9$, $F_1(4, 1)=12 308.438 1$, $P_1=0.007<0.05$),经预测最高指标时 $Y_1=35.857 7\%$,各因素最佳组合为18.000 0倍量水,煎煮3次,每次3 h。

$Y_2=-0.003 2-0.023 1X_2+0.056 5X_3+0.003 5X_1X_2-0.003 1X_1X_3$ ($r=0.999 7$, $F_2(4, 1)=374.153 6$, $P_2=0.039<0.05$);经预测最高指标时 $Y_2=0.120 1$ mg/g,各因素最佳组合为17.929 6倍量水,煎煮3次,每次2.990 3 h。

由表4可以看出,试验中3个因素及加水量和煎煮次数的交互作用对出膏率都有显著性影响,试验数据指标与因素的相关程度较高;对总蒽醌含量影响较大的因素为提取时间以及加水量和煎煮次数的交互作用、煎煮次数和提取时间的交互作用。结合实际生产对试验参数进行调整,最终确定提取工艺为加入18倍量水,煎煮3次,每次3 h。

2.4 工艺验证试验

取处方量药材适量,共3份,每份各加18倍量水浸泡30 min后,按照上述工艺提取,并测定出膏率和总蒽醌含量。结果,出膏率分别为35.16%、35.02%、34.89%,平均出膏率为35.02%,每1 g消脂保肝胶囊中含总蒽醌0.118 5、0.119 2、

不同干燥工艺对热毒清颗粒中指标成分保留率的影响^Δ

贺 帅^{1*}, 姚育法¹, 周本杰¹, 季爱民¹, 张守尧¹, 王 勇¹, 张 军², 张忠义^{1#}(1. 南方医科大学珠江医院药剂科, 广州 510282; 2. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2916-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.13

摘 要 目的: 优选热毒清颗粒的最佳干燥工艺。方法: 以热毒清颗粒中绿原酸、连翘酯苷 A、连翘苷、哈巴俄苷为指标成分, 比较常压干燥、减压干燥和喷雾干燥条件下各指标成分的保留率。结果: 绿原酸在常压干燥、减压干燥、喷雾干燥样品中保留率分别为 88.70%、89.34%、89.62%; 连翘酯苷 A 在常压干燥样品中保留率为 93.59%, 在减压干燥及喷雾干燥样品中保留率均超过 99%; 连翘苷在 3 种干燥工艺中保留率分别为 98.84%、96.18%、94.39%; 哈巴俄苷在 3 种干燥工艺中保留率分别为 79.48%、85.66%、85.99%。结论: 常压干燥条件下连翘酯苷 A 与哈巴俄苷损失较大, 而喷雾干燥与减压干燥下各指标成分相对损失较小, 但减压干燥所需时间较长, 因此喷雾干燥最适合热毒清颗粒浓缩液的干燥。

关键词 热毒清颗粒; 干燥工艺; 绿原酸; 连翘苷

Study on the Effects of Different Drying Methods on Retention Rate of Principal Component in Reduqing Granules

HE Shuai¹, YAO Yu-fa¹, ZHOU Ben-jie¹, JI Ai-min¹, ZHANG Shou-yao¹, WANG Yong¹, ZHANG Jun², ZHANG Zhong-yi¹(1. Dept. of Pharmacy, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510282, China; 2. School of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the drying method of Reduqing granules. METHODS: The retention rate of principal component by atmospheric drying, decompression drying and spray drying were compared, using chlorogenic acid, forsythiaside A, forsythin and harpagoside as indexes. RESULTS: The retention rates of chlorogenic acid in atmospheric drying sample, decompression drying sample and spray drying sample were 88.70%, 89.34% and 89.62%, respectively; the retention rate of forsythiaside A in 3 kinds of samples were 93.59%, 99% and 99%, respectively; the retention rate of forsythin in 3 kinds of samples were 98.84%, 96.18%, 94.39%; the retention rate of harpagoside in 3 kinds of samples were 79.48%, 85.66% and 85.99%, respectively. CONCLUSIONS: The loss of forsythiaside A and harpagoside in atmospheric drying sample is more than that in decompression drying sample and spray drying sample. The decompression drying process is time consuming, so the spray drying is mostly suitable for drying of Reduqing granules.

KEY WORDS Reduqing granules; Drying process; Chlorogenic acid; Forsythin

热毒清颗粒为南方医科大学珠江医院自行研发的医院制剂, 主要由金银花、连翘、大青叶、生石膏、荆芥、钩藤等 15 味中

药组成, 主要功效为疏风解表、清热解毒、利咽止咳, 主治感冒发热、咽喉肿痛、扁桃体发炎等。在前期的研究工作中, 笔者

0.114 5 mg, 平均含 0.117 4 mg, 均高于正交试验最高值, 表明所选工艺合理、可行。

3 讨论

消脂保肝胶囊处方中主要含有蒽醌类化合物和黄酮类化合物, 在前期的药理学试验中发现, 蒽醌类成分的药理学活性明显, 因此本文以总蒽醌类化合物作为提取工艺的评价指

标。在对该类组分进行化学性质分析时, 文献报道的定量方法多为酸解后显色分析^[3], 因此本文以酸解、萃取、显色作为组分定量的方法, 经方法学验证, 该试验条件重现性良好, 可以作为该处方组分定量分析的方法。

参考文献

- [1] 薛鹏喜, 童志平, 谢远. 超临界 CO₂ 萃取穗花大 黄中总蒽醌工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 56.
- [2] 张振巍, 石磊, 白丹丹, 等. 混合均匀试验优选飞龙掌血散剂总生物碱提取工艺[J]. 中国药房, 2012, 23(39): 3681.
- [3] 刘刚彦, 叶强, 余葱葱, 等. 煎煮时间对大黄蒽醌类成分的影响研究[J]. 陕西中医学院学报, 2011, 34(2): 79.

(收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-05-09)

^Δ 基金项目: 广州市科技技术重大民生攻关专项(No.2012Y2-00018-2); 广州市海珠区科技项目(No.2011-YL-02)

* 药师, 硕士。研究方向: 医院药学。电话: 020-62783373。E-mail: hs43555@163.com

通信作者: 主任药师, 博士研究生导师。研究方向: 医院药学。电话: 020-61643499。E-mail: zhang43499@sohu.com