

均匀设计法优选通心舒颗粒中药材的提取工艺

刘弘*, 王俊杰(解放军第152中心医院, 河南平顶山 467000)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)11-1014-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.11.19

摘要 目的:优选通心舒颗粒中药材的提取工艺。方法:以加水倍数、浸泡时间、提取时间、提取次数为考察因素,以提取液中丹酚酸B转移率、芍药苷转移率及干膏得率为评价指标,采用均匀设计法优选工艺。结果:最优提取工艺为加9倍量的水,浸泡20 min,提取3次,每次105 min。结论:优选的工艺简便、易行,稳定性好,可用于通心舒颗粒中药材的提取。

关键词 均匀设计;提取工艺;层次分析加权法;回归分析

Optimization of the Extraction Technology of Medicinal Material from Tongxinshu Granules by Uniform Design

LIU Hong, WANG Jun-jie (No.152 Central Hospital of PLA, Henan Pingdingshan 467000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of medicinal material from Tongxinshu granules. METHODS: The extraction technology was optimized by uniform design with the amount of water, soaking time, extraction time and extraction times as factors using transfer rate of salvianolic acid B and paeoniflorin and yield of dry extract as index. RESULTS: Optimized technology was as follows: 9-fold water, soaking for 20 min, extracting for 3 times, 105 min per time. CONCLUSIONS: The preferred process is simple, easy, stable and suitable for the extraction of Tongxinshu granules.

KEYWORDS Uniform design; Extraction technology; AHP; Regression analysis

通心舒颗粒是由人参、丹参、赤芍、当归、川芎、黄芪等8味中药组成的临床验方,具活血化痰、行气止痛之功效,临床主要用于治疗瘀血内停所致的胸痹心痛、胸闷刺痛等胸痹症,疗效显著,不良反应少。为制定科学、合理的提取工艺,笔者根据处方中药物的药理作用及有效成分的理化性质,结合中医配伍原则及临床用药特点,采用均匀设计安排试验,以丹酚酸B、芍药苷为指标成分,运用SPSS统计软件处理试验数据,优选通心舒颗粒水提工艺,为实际生产提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT高效液相色谱(HPLC)仪,包括LC-20ATvp溶剂输送泵、SCIENCE AT-330柱温箱、SIL-20A自动进样器、SPD-M20A二极管阵列检测器、LC solution色谱工作站(日本岛津公司)。

1.2 药材与试剂

处方中各药材由解放军第152中心医院中药房提供,经解放军第152中心医院赵国景副主任中药师鉴定为真品;丹酚酸B、芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为111562-200706、110753-200413);甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹酚酸B、芍药苷的含量测定

2.1.1 色谱条件^[1-4] 色谱柱:WondasilTM C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:乙腈-0.1%磷酸盐缓冲液(梯度洗脱程序见表1);流速:0.8 ml/min;柱温:30℃;检测波长:286(丹酚酸B)、230(芍药苷) nm;进样量:10 μl。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 称取丹酚酸B、芍药苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为215、208 μg/ml的混合对照

* 副主任药师。研究方向:制剂学、临床药学。电话:0375-3843115。E-mail:liuhong152@126.com

表1 梯度洗脱程序
Tab 1 Gradient elution

时间,min	乙腈,%	磷酸盐缓冲液,%
0~10	15	85
>10~30	15~33.5	85~66.5
>30~36	33.5~15	66.5~85
>36~45	15	85

品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密吸取各提取液10 ml,置25 ml量瓶中,甲醇定容,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取丹酚酸B、芍药苷混合对照品溶液2、6、10、14、15、20、25 μl,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积积分值。以对照品进样量(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得丹酚酸B、芍药苷的回归方程分别为 $y = 1476.174.794 6x - 13 688.987 2$ ($r = 0.999 9$)、 $y = 1 506 577.200 3x + 78 568.964 4$ ($r = 0.999 8$)。结果表明,丹酚酸B、芍药苷的进样量分别在0.416~4.160、0.430~5.375 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.5 精密度试验 精密吸取丹酚酸B、芍药苷混合对照品溶液适量,按上述色谱条件重复进样测定6次,每次10 μg。结果显示,丹酚酸B、芍药苷的RSD分别为1.29%、1.36% (n 均为6),表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取供试品溶液适量,分别在0、2、4、6、8、16、24 h进样10 μl,按上述色谱条件测定。结果显示,丹酚酸B、芍药苷的RSD分别为1.72%、1.16% (n 均为7),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 取同一批提取液适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定6次,每次10 μl,测定丹酚酸B、芍药苷峰面积。结果,丹酚酸B、芍药苷的RSD分别为0.83%、0.96% (n 均为6),表明方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取已知丹酚酸B(3.2 mg/g)、

芍药苷(1.3 mg/g)含量的通心舒颗粒样品 1.5 g,共 9 份,精密加入样品中各成分质量分数为 80%、100%、120% 的丹酚酸 B、芍药苷对照品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件测定丹酚酸 B、芍药苷含量,并计算加样回收率。结果表明,丹酚酸 B、芍药苷的平均加样回收率分别为 1.28%、0.51%,RSD 分别为 1.28%、0.51%(*n* 均为 9)。

2.2 均匀设计优选提取工艺

2.2.1 试验设计 根据实际生产及相关文献^[5-6],结合处方中各药味的理化性质,先取处方量人参、丹参进行醇提,将醇提后残渣与方中剩余处方量药材混合,以加水倍数(A)、浸泡时间(B)、提取时间(C)、提取次数(D)为考察因素,前 3 个因素拟定为 7 个水平,提取次数拟定为 3 个水平;以丹酚酸 B、芍药苷转移率(转移率=提取液中指标成分含量/药材中指标成分含量×100%,1 g 丹参中含丹酚酸 B 的量为 56.5 mg,1 g 芍药中含芍药苷的量为 22.0 mg)和干膏得率(干膏得率=干膏质量/干膏中所含药材质量×100%)为评价指标,选择均匀设计 U_{7(7³×3)} 表进行试验。因素与水平见表 2;均匀设计试验结果见表 3。

表 2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素			
	A,倍	B,min	C,min	D,次
1	8	0	30	1
2	9	20	45	2
3	10	40	60	3
4	11	60	75	
5	12	80	90	
6	13	100	105	
7	14	120	120	

表 3 均匀设计试验结果

Tab 3 Results of uniform design

试验号	因素				干膏得率,%	转移率,%	
	A	B	C	D		丹酚酸B	芍药苷
1	8	20	60	3	30.53	81.66	80.84
2	9	60	105	3	37.58	82.72	89.88
3	10	100	45	2	31.92	62.56	70.28
4	11	0	90	2	32.96	79.70	86.57
5	12	40	30	1	25.47	39.67	56.60
6	13	80	75	1	27.23	42.00	63.46
7	14	120	120	3	37.60	97.63	97.02

2.2.2 数据处理及结果优化^[7-9] 中药制剂成分复杂,对工艺的评价一般借助于试验数据的优化处理。笔者采用层次分析加权法(AHP)优化试验数据,通过分析处方配伍理论,根据“君臣佐使”原则,明确指标成分权重系数,计算初始权重系数并对其进行一致性检验(CR)。指标成分权重系数分配见表 4。

表 4 指标成分权重系数分配

Tab 4 Distribution of weight coefficient of the components

指标类别	权重系数	CR	AHP规定	结论
丹酚酸B转移率	0.654 8			
芍药苷转移率	0.249 9	0.009 1	CR<0.10	符合要求
干膏得率	0.095 3			

根据表 4 安排,对各试验结果计算综合得分率,结果 1~7 号试验的综合得分率分别为 76.58%、80.21%、61.57%、76.96%、42.55%、45.95%、91.75%。采用 SPSS17.0 统计软件对上述试验结果进行回归分析,以各影响因素为自变量,以指标成分综合得分为因变量,得回归方程为 $Y = -4.383 +$

$2.516A - 0.085B + 0.098C + 19.791D$,复相关系数 $R = 0.979$, $F = 11.639$, $P < 0.05$,表明方程具有统计学意义。由方程可知,加水倍数、提取时间、提取次数与提取效果呈正相关,浸泡时间与提取效果呈负相关,且影响大小为提取次数>加水倍数>提取时间>浸泡时间。结合各试验水平下综合得分结果,虽处方 7 得分最高,但考虑到实际生产条件及经济性,最终确定最佳提取工艺为加 9 倍量的水,浸泡 20 min,提取 3 次,每次 105 min。

2.3 工艺验证试验

取人参、丹参醇提后残渣与方中剩余处方量药材混合,采用上述优选的工艺制备供试品溶液,再按“2.1”项下方法测定丹酚酸 B、芍药苷含量,计算干膏得率和各指标成分的转移率。结果,各评价指标与正交试验最高值相当,表明优选的工艺重复性好,稳定、可行。工艺验证试验结果见表 5。

表 5 工艺验证试验结果

Tab 5 Results of validation test of technology

试验号	丹酚酸B转移率,%	芍药苷转移率,%	干膏得率,%
1	86.12	92.19	36.05
2	85.72	93.52	36.19
3	87.32	91.59	36.22
RSD,%	0.96	1.07	0.25

3 讨论

中药复方制剂成分复杂,在工艺筛选中选取单一成分作为指标,难免出现片面性。中医药理论指导下的中药制剂,疗效的发挥是多种有效成分共同作用的结果。因此,多指标共同考察工艺参数,不仅能反映制剂的工艺水平,且能在一定程度上反映所用药材的质量,同时指标成分的分离测定还可以综合反映传统中药组方的配伍状况,这既考虑到中医临床用药的习惯,又符合质量控制的要求。

均匀设计在中药制剂工艺优选研究中应用广泛,各试验具备在试验点范围内充分的均匀分散的特点。因此,应保证试验条件的可比性,准确选择考察因素,恰当地确定各因素的考查范围,合理划分因素水平,同一因素各水平之间的差距应足够大,水平之间的差距对评价指标的影响越显著,回归分析结果的精确性就越高;同时应该严格控制试验误差,均匀设计的结果才准确、可靠。本试验在查阅相关文献并结合实际生产的情况下,选取对提取效率影响较大的加水量、浸泡时间、提取时间及提取次数为因素,合理选择各因素水平,通过优化分析,最终得出经济、简便、合理、实用的提取工艺。

采用 AHP 优化试验数据,较其他方法更为科学、合理的解决综合评价中权重系数选择问题,但在层次分析时应注意一些不足和弊端:指标不能一味增大;AHP 仅限于评价指标在 9 个之内;各指标的权重数值大小需结合专业知识及研究目的来确定,且需要进一步进行 CR。SPSS 统计软件回归分析结果可以很好地预测及确定最佳工艺水平,验证试验结果表明,选取的各参数准确、可靠。

参考文献

- [1] 王刚,杜士明,陈黎,等.高效液相色谱法测定活血通瘀片中丹参素和丹酚酸 B 含量[J].中国医院药学杂志,2010,30(15):1 333.
- [2] 彭俊付,赵宝明,张书信.RP-HPLC 测定广痛消中芍药苷含量的方法[J].中国中药杂志,2011,36(23):3 268.

大黄炮制前后物质基础变化研究

胡永淑*(成都市第六人民医院药剂科,成都 610051)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)11-1016-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.11.20

摘要 目的:探讨大黄不同炮制品在炮制前后物质基础的变化规律。方法:分别制备生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭等几种炮制品,采用薄层色谱法测定不同炮制品中干燥失质量和酸不溶成分、总灰分、浸出物含量;并测定鞣质及蒽醌含量变化。结果:生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭总灰分及酸不溶成分含量相差不多;酒大黄及熟大黄干燥失质量及浸出物含量没有明显变化,大黄炭干燥失质量及浸出物含量明显降低;大黄在炮制前后蒽醌及鞣质含量发生了变化,且变化程度同炮制条件的强烈程度相关。熟大黄中游离蒽醌含量最高,生大黄中结合蒽醌含量最多。结论:鞣质及蒽醌类物质为大黄泻下解热的物质基础。对饮片不同炮制品的物质基础变化进行研究,可为不同炮制品的质量鉴定提供参考。

关键词 大黄;炮制;物质基础;变化

Change of Material Base of *Rheum palmatum* before and after Processing

HU Yong-shu(Dept.of Pharmacy, The Sixth People's Hospital, Chengdu 610051, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To probe into the change regularity of material base for different specifications of *Rheum palmatum* decoction pieces before and after processing. METHODS: *R. palmatum*, prepared *R. palmatum* with wine, prepared *R. palmatum*, charred *R. palmatum* and other processed preparation were preparation respectively; loss on drying, the contents of acid insoluble components, total ash content and extract in different processed *R. palmatum* products were all determined by TLC. Also, the contents of tannin and anthraquinone were determined. RESULTS: It was similar that the contents of total ash and acid insoluble components in *R. palmatum*, prepared *R. palmatum* with wine, prepared *R. palmatum*, charred *R. palmatum*; no obvious change was found in the loss on drying and the content of extract from prepared *R. palmatum* with wine and prepared *R. palmatum*; the loss on drying and the content of extract from charred *R. palmatum* decreased significantly. The contents of tannin and anthraquinone in *R. palmatum* before and after processing had changes, which were related with the density of process technology. The content of free anthraquinone in prepared *R. palmatum* was the most, and the content of anthraquinone in *R. palmatum* was the most. CONCLUSIONS: Tannin and anthraquinone were the material base for purgation and fever relief. The research on the changes of material base for different processed products can provide reference for the quality identification of different processed products.

KEYWORDS *Rheum palmatum*; Process; Material base; Change

中药炮制是在中医药理论指导下,按照中药药理及药物配伍需求,将药材或饮片进一步加工,使其在炮制后药性发生一定改变,降低或消除毒性及副作用,或者增加某方面疗效,达到增效减毒的目的,使其更适应临床用药需求。而炮制前后药材或饮片自身化学组分及生物活性变化规律,可以丰富药性理论,阐明炮制原理,为制订不同炮制品的质量标准提供可靠依据^[1]。

大黄,始载于《神农本草经》,为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄等的干燥根和根茎,味苦,性寒,归脾、胃、

大肠、心、肝经^[2]。它既能攻击导滞、通肠泄热,又可以导湿热之邪自大便而出,促进黄疸消退;同时入心肝血分,可以泄血中实热火毒、凉血止血而解毒,还可以通利血脉、活血化瘀。目前,有关大黄的炮制品记载较多,常用的有生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭等4种炮制品。生大黄擅长攻击导滞;酒大黄善解上焦热毒,用于治疗齿龈肿痛、目赤咽痛;熟大黄能泻火解毒,用于治疗疮疡火毒;大黄炭能化瘀、凉血、止血,用于治疗血热积滞的出血诸证。笔者主要以生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭4种大黄炮制品为对象,研究炮制前后化学组分及

- [3] 黄文君,龙凤荣,伍庆,等.RP-HPLC法同时测定痛经宁胶囊中4种有效成分[J].中成药,2012,34(11):2133.
- [4] 田润.HPLC法同时测定妇炎康片中丹酚酸B、隐丹参酮和芍药苷[J].中成药,2013,35(1):91.
- [5] 赵华,李新莉.均匀设计优选胆舒平胶囊的提取工艺研究[J].中医药导报,2012,18(1):65.
- [6] 方开泰.均匀设计与均匀设计表[M].北京:科学出版社,

- 1994:13-98.
- [7] 徐维佳,周海虹,陈少东.均匀设计在中药复方研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(13):236.
- [8] 王晖,陈丽,陈垦,等.多指标综合评价方法及权重系数的选择[J].广东药学院学报,2007,23(5):583.
- [9] 崔红花,赵英日,王淑美.大黄蒽醌类成分的提取方法筛选及均匀设计优化工艺研究[J].中国药房,2010,21(7):612.

*主管中药师。研究方向:临床药学。电话:028-84332066-8085。
E-mail: yshu0606@126.com

(收稿日期:2013-02-07 修回日期:2013-05-08)