

· 中药工业 ·

正交试验优选健脾消食颗粒的提取工艺

张子龙, 梁奇, 谢月, 曹丽萍, 杨光义*

(深圳市宝安中医院, 广东 深圳 518000)

[摘要] 目的: 优选健脾消食颗粒的提取工艺。方法: 以炒莱菔子中芥子碱硫氰酸盐含量和固形物质量为评价指标, 选择加水量、提取时间、煎煮次数作为考察因素, 通过正交试验, 优选健脾消食颗粒的提取工艺。结果: 煎煮次数对提取效果的影响最大, 优选的提取工艺为煎煮2次, 每次加水量为10倍, 提取1.5 h, 芥子碱硫氰酸盐总含量、固形物质量平均值为30.13 mg、36.16 g。结论: 优选的提取工艺条件合理, 工艺条件稳定可行。

[关键词] 健脾消食颗粒; 正交试验; 提取工艺; 芥子碱硫氰酸盐; 固形物质量

Optimization of Extraction Process for Jianpixiaoshi Granules by Orthogonal Test

ZHANG Zi-long, LIANG Qi, XIE Yue, CAO Li-ping, YANG Guang-yi*

(Shenzhen Bao'an Traditional Chinese Medicine Hospital Group, Shenzhen 518000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of Jianpixiaoshi granules. **Methods:** With evaluation index of content of sinapine thiocyanate and quality of solid matters, orthogonal test was adopted to optimize extraction technology of Jianpixiaoshi granules by taking the amount of water, extraction time and extraction times as factors. **Results:** The extraction times has significant influence on the extraction effect. Optimum extraction technology of Jianpixiaoshi granules was as follows: extracted two times with ten times the amount of water, one hour and a half each time; Average extracting amounts of sinapine thiocyanate and quality of solid matters were 30.13 mg and 36.16 g, respectively. **Conclusion:** The optimized extraction process is reasonable, while the process condition is stable and feasible.

[Keywords] Jianpixiaoshi granules; orthogonal test; extraction technology; sinapine thiocyanate; quality of solid matters

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180124003

健脾消食颗粒, 为我院中医儿科诊疗中心的多年临床经验方, 经剂型优化、改进而制成的中药制剂, 具有健脾益气、消食化滞的功效, 主要用于治疗小儿脾虚厌食、消化不良等病症。该方主要由炒莱菔子、麸炒白术、山药和砂仁等十味中药组合而成, 诸药合用, 共奏健脾益气的功效, 可消化各种食物积滞。

健脾消食方, 原汤剂内服, 用药疗程较长, 临床疗效确切, 但存在煎煮、携带和使用不方便等缺点。颗粒剂具有载药量大, 稳定性好, 服用和携带方便等优点, 适合病人长期服用, 可以满足临床用药需要。因此, 结合预试验结果和医院生产条件, 拟制备成颗粒剂。

由于本方中药药味较多, 本研究通过查阅中药

颗粒提取工艺的相关文献^[1-3], 结合该方中药的性质特征, 拟定该方的提取工艺路线为单味砂仁水蒸气蒸馏法提取挥发油; 砂仁药渣与其余麸炒白术等九味药混合水提, 以炒莱菔子中芥子碱硫氰酸盐含量和固形物质量为评价指标, 分别对影响考察提取效果的加水量、提取时间和煎煮次数进行正交试验, 优选健脾消食方的最佳提取工艺。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪(HP-1100, HP-1200, 美国安捷伦); 电子分析天平(BP 211D, d = 0.01 mg, 德国赛多利斯); 超声波清洗仪(SK7200LHC, 上海科导超声仪器有限公司); 旋转蒸发仪(RE-2000A型,

* [通信作者] 杨光义, 主任药师, 研究方向: 中药资源与药代动力学研究; Tel: 13971908298, E-mail: ygy996@163.com

上海亚荣生化仪器厂); 恒温水浴锅(HH-4, 金坛市杰瑞尔电器有限公司); 予华 SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 试剂

乙腈、甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为纯化水。

1.3 药物

炒莱菔子、麸炒白术、山药和砂仁等十味药材均购自康美药业股份有限公司, 经广州中医药大学第一附属医院黄月纯主任中药师鉴定为正品。芥子碱硫氰酸盐对照品(批号: 111702-201605), 购自中国食品药品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 固形物质量的测定

精密吸取各样品浓缩液 25 mL, 至已恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 照干燥失重法(《中华人民共和国药典》2015 年版四部 0831)测定, 计算固形物质量, 公式如下:

$$\text{固形物质量(g)} = \frac{W \times N}{25} \quad (1)$$

W 为 25 mL 浓缩液中干浸膏重量, V 为定容体积。

2.2 芥子碱硫氰酸盐的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-3% 冰醋酸溶液(14:86); 检测波长: 326 nm; 流速: 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取芥子碱硫氰酸盐对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含芥子碱硫氰酸盐 107.82 μ g 的溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取各样品溶液, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

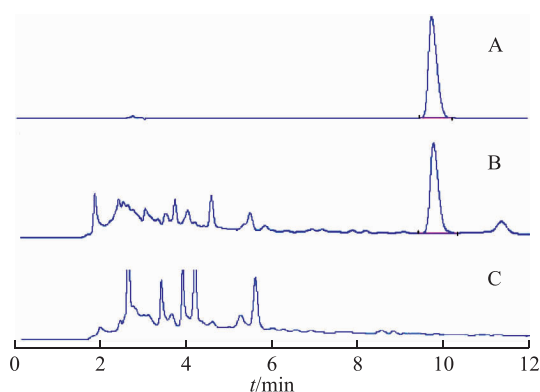
2.2.4 阴性样品溶液的制备 称取除莱菔子外的药材加 10 倍量水, 煎煮 2 次, 每次 1.5 h, 药液滤过, 合并滤液, 浓缩并定容至 250 mL, 制得阴性样品溶液。

2.2.5 标准曲线的绘制 精密量取芥子碱硫氰酸盐对照品溶液(107.82 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$) 1、2、3、4、5 μ L 进样, 记录色谱图, 测定其峰面积, 并以峰面积(Y)对进样质量(X)进行回归, 得回归方程: $Y = 2.9309X + 0.9202$, $r = 0.99994$ 。结果表明: 在 107.82 ~

539.10 ng 范围内, 芥子碱硫氰酸盐峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.2.6 阴性干扰的判断 吸取上述对照品、供试品及阴性对照溶液各 5 μ L, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果如图 1 所示, 阴性对照图谱与对照品、供试品图谱中芥子碱硫氰酸盐相应的保留时间无其他峰干扰, 表明选择性良好, 阴性无干扰。

2.2.7 样品含量测定 精密吸取各供试品溶液各 2 μ L 进样, 即得。



注: A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品。

图1 健脾消食颗粒水提液 HPLC 图

2.3 提取工艺研究

采用正交试验法, 以莱菔子中芥子碱硫氰酸盐含量和固形物质量为评价指标, 分别对影响考察提取效果的煎煮次数、提取时间、加水量进行正交试验, 优选健脾消食方的最佳提取工艺, 因素水平设计见表 1。

表1 因素水平表

水平	因素		
	A 煎煮次数/次	B 加水量/倍	C 提取时间/h
1	1	8	1
2	2	10	1.5
3	3	12	2

2.3.1 样品的制备 按处方称取炒莱菔子、麸炒白术、山药等饮片与相同处方量的砂仁提取挥发油后的药渣 9 份, 每份 180 g, 按 L₉(3⁴) 正交试验表安排进行提取, 滤过, 滤液浓缩并定容至 250 mL, 测定浓缩液中固形物质量和芥子碱硫氰酸盐含量。

2.3.2 数据分析 采用综合加权评分法, 以固形物质量和芥子碱硫氰酸盐含量的 9 次试验的最大值为

100分,将各指标成分的总量分别转换为评分值,固形物质量的加权系数为0.4,芥子碱硫氰酸盐的加权系数为0.6。以芥子碱硫氰酸盐含量和固形物质量为考察指标,进行综合评价,筛选最佳提取工艺。结果见表2、表3。

表2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D (空白)	芥子碱 硫氰酸 盐总量/ mg	固形物 质量/g	综合 评分
1	1	8	1	1	19.69	22.18	59.85
2	1	10	1.5	2	24.98	29.93	77.65
3	1	12	2	3	25.91	30.22	79.74
4	2	8	1.5	3	28.18	38.00	91.66
5	2	10	2	1	29.61	41.74	98.04
6	2	12	1	2	28.49	41.29	95.41
7	3	8	2	2	30.61	34.98	93.53
8	3	10	1	3	29.86	38.27	95.21
9	3	12	1.5	1	28.71	39.53	94.17
K1	217.24	245.03	250.47	252.06			
K2	285.11	270.9	263.47	266.59			
K3	282.91	269.33	271.31	266.61			
R	67.87	25.87	20.84	14.55			

表3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方(MS)	F值	P值
A	991.50	2.00	495.75	21.11	<0.05
B	140.21	2.00	70.11	2.99	>0.10
C	73.84	2.00	36.92	1.57	>0.10
误差	46.97	2.00	23.48	/	/

注: $F_{0.1}(2, 2) = 9.00$, $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,影响提取效果的因素顺序为:煎煮次数>加水量>提取时间,由此得出的最佳工艺组合为 $A_2B_2C_3$ 。由方差分析可知,煎煮次数(A)对结果影响显著,因此本因素选择第二水平,即煎煮两次。提取时间第二、三水平之间差别不显著,综合考虑到缩短生产周期降低生产成本等,故最终优选的提取工艺为: $A_2B_2C_2$,即煎煮2次,每次加水量为10倍,提取1.5h。

2.3.3 最佳提取工艺条件验证 按处方比例,称取药材3份,每份180g,按照优选的提取工艺提取,测定芥子碱硫氰酸盐总含量和固形物质量结果见表4。

表4 工艺验证试验

试验编号	芥子碱硫氰酸盐 总含量/mg	固形物质量/g	综合评分值
1	29.69	34.55	88.95
2	29.63	37.63	91.58
3	31.06	36.29	93.19
平均值	30.13	36.16	91.24

结果表明:验证试验结果与正交试验优选结果基本吻合,说明正交试验选出的提取工艺条件合理,工艺条件稳定可行。

3 讨论

莱菔子含有莱菔素、芥子碱和芥酸等化学成分,其中,芥子碱是其药理活性成分之一,而莱菔子中的芥子碱多以芥子碱硫氰酸盐的形式存在^[4]。根据《中华人民共和国药典》^[5]一部中莱菔子质量标准的规定,芥子碱硫氰酸盐作为含量测定的指标物质。因此,在许多含有莱菔子的中药制剂中,大多采用芥子碱硫氰酸盐作为考察指标,测定芥子碱硫氰酸盐的含量对于方中药材质量的控制和制剂质量标准的制定有较重要的意义。

此外,莱菔子的炮制工艺,对于其硫苷类化合物的含量具有较大的影响。适宜“火候”炒制莱菔子,可显著提高其硫苷含量,炮制品中硫苷含量最大可达生品的4.2倍,但是,在高温长时间条件下炒制,其硫苷含量则大幅下降,表面炭化的样品中硫苷基本消失,验证了莱菔子传统炮制中“火候”的科学性与重要性^[6]。

参考文献

- [1] 周滢,曾志华.烫骨碎补配方颗粒的提取工艺优选及其含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2015,21,(5):54-56.
- [2] 黄忠钧,张艳,孟宪生,等.参草通脉颗粒三七总皂苷提取工艺优化研究[J].中国现代中药,2013,15(5):403-405.
- [3] 陈娟,梁小银,林大都,等.正交试验法优选防己配方颗粒的提取工艺[J].中国现代中药,2013,15(8):687-690.
- [4] 江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海科学出版社,2000:1801-1802.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:272.
- [6] 任涛,吕文海.以硫代葡萄糖苷相对含量优选莱菔子炮制工艺研究[J].中成药,2010,32(7):1159-1162.

(收稿日期 2018-01-24)