

湿毒清胶囊中地黄的提取工艺优化及其切制前后药效对比

覃柳珍¹, 覃葆^{2*}, 刘泉², 林威², 韦东晓², 仝丹丹², 贺勤², 梁悦²

(1. 广西医科大学第四附属医院, 广西 柳州 545005; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

[摘要] **目的:** 优选湿毒清胶囊中地黄的提取工艺并比较地黄切制前后的药效。**方法:** 采用 HPLC 测定梓醇含量, 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(1:99), 检测波长 210 nm。以梓醇提取量为指标, 采用正交试验考察粉碎度、料液比、提取时间对地黄提取工艺的影响。以生理盐水为空白对照, 地塞米松为阳性对照, 通过抗炎镇痛试验比较地黄药材切制前后高(16 g·kg⁻¹)、低剂量组(8 g·kg⁻¹)的药效差异。**结果:** 最佳提取工艺为粉碎成 5 mm 小块, 加 20 倍量水提取 2 次, 每次 1.5 h。切制前后高剂量组对二甲苯诱发小鼠耳廓肿胀的抑制率分别为 33.72%, 48.34%; 低剂量组依次为 43.13%, 64.31%。**结论:** 该工艺稳定可行, 为湿毒清胶囊的工业生产提供参考。

[关键词] 湿毒清胶囊; 地黄; 梓醇; 抗炎镇痛试验

[中图分类号] R283.6; R285.5; R944.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0038-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180038

Optimization of Extraction Technology for Rehmanniae Radix from Shiduqing Capsules and Comparison of Its Pharmacodynamic Action Before and After Being Processed

QIN Liu-zhen¹, QIN Bao^{2*}, LIU Quan², LIN Wei², WEI Dong-xiao², TONG Dan-dan², HE Qin², LIANG Yue²

(1. Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, China;

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extracting technology of Rehmanniae Radix in Shiduqing capsules and compared its pharmacodynamic action before and after being processed. **Method:** HPLC was employed to determine the content of catalpol with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (1:99) and detection wavelength at 210 nm. With extracting amount of catalpol as index, orthogonal test was adopted to optimize extraction technology by taking liquid-solid ratio, grinding degree and extracting time as factors. With physiological saline as blank control and dexamethasone as a positive control, pharmacodynamic action of Rehmanniae Radix before and after being processed was compared by anti-inflammatory and analgesic test. **Result:** Optimum extracting technology was as following: shattered into 5 mm small pieces and extracted twice with 20 times the amount of water for 1.5 hours per time. Before and after being cut, inhibition rates for xylene-induced auricle swelling in mice of high-dose (16 g·kg⁻¹) groups were 33.72% and 48.34%, while low-dose groups were 43.13% and 64.31%, respectively. **Conclusion:** This optimized extracting technology is stable and feasible, which provides a reference for industrial production of Shiduqing capsules.

[Key words] Shiduqing capsules; Rehmanniae Radix; catalpol; anti-inflammatory and analgesic trial

湿毒清胶囊为广西玉林制药的名优产品, 属国家中药保护品种, 由地黄、丹参、苦参、蝉蜕、当归、白

[收稿日期] 20140115(019)

[基金项目] 国家科技特派员项目(2009GJE10028)

[第一作者] 覃柳珍, 主管中药师, 从事医院制剂研究, Tel:13788523796, E-mail:1914262082@qq.com

[通讯作者] *覃葆, 教授, 硕士生导师, 从事中药炮制及中药质量标准研究, Tel:13481151916, E-mail:763580776@qq.com

鲜皮、甘草、黄芩及土茯苓组成,具有养血润肤、祛风止痒的功效^[1]。目前该胶囊的相关文献报道较少,仅有采用 HPLC 测定苦参中苦参碱含量的质量标准研究^[2]。在当今中药生产企业的工业生产过程中,对原料药的前处理不够重视,药材未经切制或未按严格标准粉碎就投入煎煮的问题较为多见。本实验结合企业现有的工艺方法,系统分析湿毒清胶囊中主要原料药材地黄,通过正交试验优选该药材的提取工艺,为企业改进原料药前处理及药物规范化生产提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司),LG16-W 型离心机(北京医用离心机厂),BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),DFY-300 型摇摆式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。地黄药材由广西玉林制药集团有限责任公司提供(批号 110504),经广西中医药大学韦松基教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根;梓醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110808-200508),地塞米松磷酸钠注射液(河南润弘制药股份有限公司,批号 1109091),阿司匹林肠溶片(舒泰神生物制药股份有限公司,批号 110306),甲醇、乙腈为色谱纯,水为蒸馏水,其余均为分析纯。

2 方法与结果

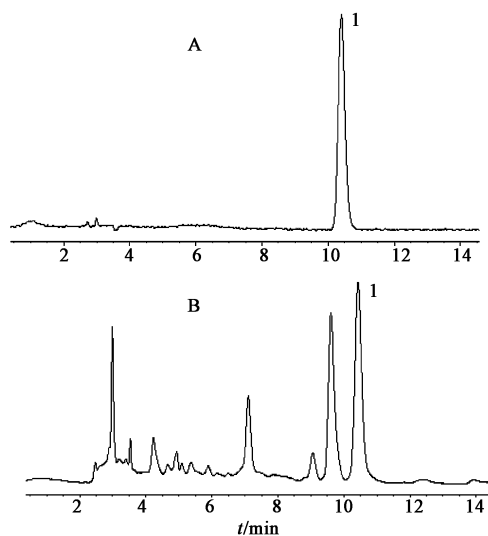
2.1 梓醇的含量测定

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取地黄药材适量,加一定量水煎煮 2 次,合并煎煮液,加入 2 倍量 95% 乙醇,静置,过滤,浓缩至干浸膏,加水定容至 25 mL,摇匀,离心($3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min),即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取梓醇对照品适量,置 10 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,得 $0.26\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 对照品溶液,即得。

2.1.3 色谱条件 Intersil ODS-4 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(1:99),检测波长 210 nm,柱温为室温,进样量 10 μL。在此条件下,目标峰与其他组分达到基本分离,分离度 > 1.5,理论塔板数按梓醇计算 > 5 000,见图 1。

2.1.4 标准曲线绘制及线性范围考察 精密量取 $0.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 梓醇对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20 μL,按 2.1.3 项下方法测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 351.829\ 0X + 38.598\ 3$ ($r = 1.000\ 0$),线性范围 1.0 ~ 10 μg。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 梓醇
图 1 地黄提取液 HPLC

2.1.5 精密度试验 吸取同一梓醇对照品溶液,按 2.1.3 项下方法重复进样 6 次,每次进样 5 μL,结果峰面积的 RSD 0.68%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 精密称取适量地黄药材,按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,分别在 0, 4, 8, 12, 18, 24 h 按 2.1.3 项下方法测定,结果梓醇峰面积的 RSD 2.45%,表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 精密称取同一地黄药材 6 份,每份 2.0 g,按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下方法测定梓醇含量,计算 RSD 2.45%,表明本方法重复性良好。

2.1.8 加样回收试验 精密称取已知含量的地黄药材 6 份,各精密加入梓醇对照品,按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下方法测定,结果见表 1,表明本法具有良好的回收率。

表 1 地黄中梓醇含量测定的加样回收率试验

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
20.798 8	22.975 9	100.79		
21.908 4	23.961 7	95.06		
21.092 3	23.179 4	96.63		
21.402 0	23.566 7	100.22	97.69	2.38
22.488 5	24.593 0	97.43		
21.032 0	23.105 4	95.99		

注:加入量均为 2.16 mg。

2.2 提取工艺优选 选择粉碎度、料液比、提取时间为考察因素,以梓醇提取量为评价指标,精密称取

地黄药材 2.0 g, 共 9 份, 按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 每个因素取 3 个水平, 因素水平见表 2, 试验安排及结果见表 3, 方差分析见表 4。

表 2 湿毒清胶囊中地黄提取工艺正交试验因素水平

水平	A 粉碎度	B 料液比	C 提取时间/h
1	原药材	1:10	0.5
2	厚片	1:15	1.0
3	5 mm 小块	1:20	1.5

表 3 湿毒清胶囊中地黄提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	梓醇提取量 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	0.846 6
2	1	2	2	2	1.279 1
3	1	3	3	3	3.008 5
4	2	1	2	3	4.302 1
5	2	2	3	1	5.456 6
6	2	3	1	2	4.642 2
7	3	1	3	2	4.841 7
8	3	2	1	3	5.597 6
9	3	3	2	1	5.047 5
K_1	5.13	19.98	22.57	22.71	
K_2	14.40	25.07	21.26	21.53	
K_3	15.49	25.40	26.61	26.22	
R	3.45	1.81	1.79	1.56	

表 4 地黄提取工艺方差分析

方差来源	SS	F	P
A	88.39	22.26	<0.05
B	6.15	1.55	>0.05
C	5.19	1.31	>0.05
D(误差)	3.97		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$ 。

由直观分析可知, 各因素影响梓醇含量的主次顺序为 $A > B > C$ 。方差分析表明因素 A 具有显著性影响, 其他因素则无显著性影响, 确定最佳提取工艺组合为 $A_3B_3C_3$, 即粉碎度为 5 mm 小块, 料液比 1:20, 提取时间 1.5 h。地黄水提取物中主要含糖类、生物碱类、苷类、氨基酸、磷酸、鞣质或酚性成分, 梓醇为环烯醚萜苷类, 溶于水^[3]。料液比 1:15 与 1:20 的 K 值较接近, 水提物中含糖量最多, 可减少含糖量而不影响梓醇含量作进一步研究, 以提高工业化生产效率。

2.3 切制前后药效比较

2.3.1 地黄原药材提取物的制备 将地黄块根洗

净, 于 40 °C 低温干燥, 称取 300 g 按优选的工艺条件煎煮 2 次, 合并水煎液, 浓缩至适量, 加入 2 倍量 95% 乙醇, 静置, 过滤, 浓缩至 0.8 g·mL⁻¹。

2.3.2 地黄切制品提取物的制备 将地黄块根洗净, 切厚片, 40 °C 低温干燥, 称取 300 g 按优选的工艺条件煎煮 2 次, 合并水煎液, 浓缩至适量, 加入 2 倍量 95% 乙醇, 静置, 过滤, 浓缩至 0.8 g·mL⁻¹。

2.3.3 动物分组与给药 取昆明种小鼠 60 只, 雌雄不拘, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为生理盐水对照组、阳性对照组(地塞米松)、地黄原药材高(16 g·kg⁻¹)和低(8 g·kg⁻¹)剂量组、地黄切制品高(16 g·kg⁻¹)和低(8 g·kg⁻¹)剂量组, 除阳性组腹腔注射外, 其余各组均按 0.02 mL·g⁻¹ 剂量灌胃, 连续 5 d。

2.3.4 抗炎镇痛试验 末次给药 2 h 后各鼠右耳耳壳正、反两面均匀涂二甲苯 0.1 mL 致炎, 以左耳作为对照。致炎后 1 h 后将小鼠颈椎脱臼处死, 沿耳廓基线剪下两耳, 用直径 8 mm 打孔器于同一部位打下圆耳片并称重。采用 SPSS 16.0 软件处理数据, 各给药组与对照组的耳廓肿胀度均值进行 t 检验, 计算给药组的肿胀抑制率, 见表 5, 结果表明与空白对照组比较, 地黄原药材与地黄切制品高、低剂量组均具有(极)显著性差异, 且切制品的抑制率均高于原药材。

表 5 地黄及其切制品对二甲苯诱发小鼠耳廓肿胀的影响(n=10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	耳廓肿胀度 ($\bar{x} \pm s$)/mg	抑制率 /%
空白对照		26.87 ± 8.87	
地塞米松	0.004 5	11.16 ± 6.09 ²⁾	58.47
地黄原药材	8	17.81 ± 8.33 ¹⁾	33.72
地黄原药材	16	13.88 ± 9.21 ²⁾	48.34
地黄切制品	8	15.28 ± 6.72 ²⁾	43.13
地黄切制品	16	9.59 ± 6.55 ²⁾	64.31

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

地黄为方中君药, 富含糖类成分, 粉碎存在一定困难, 正交试验中切厚片与切成 5 mm 的小粒的 K 值较接近, 故建议企业将原先的用原药材投料更改为切厚片后投料, 切制前后的抗炎镇痛试验更进一步证明了该工艺改良的必要性, 为地黄入其他中成药的工业化生产提供参考。

梓醇的结构属于易于破坏的环烯醚萜苷类, 但分解需要一定条件。当梓醇溶于水中于 100 °C 加热

响应曲面法优化野生酸荔枝核中抗乙肝成分的提取工艺

陈华妮¹, 潘洁萍², 黄小丹², 李振中², 钱力^{2*}

(1. 百色学院, 广西 百色 533000; 2. 右江民族医学院, 广西 百色 533000)

[摘要] **目的:** 优选酸荔枝核中抗乙肝黄酮类化合物的提取工艺。**方法:** 以芦丁为对照品, 采用UV测定总黄酮含量。以总黄酮提取率为指标, 温度、粉碎度、乙醇体积分数、料液比、提取时间、搅拌速度为自变量, 在单因素试验基础上, 通过Plackett-Burman试验筛选显著影响因子, 利用Box-Behnken设计考察各自变量与响应值之间的关系, 模拟得到二次多项式回归方程的预测模型, 确定最佳提取工艺。**结果:** 粉碎度和乙醇体积分数是影响荔枝核中总黄酮提取效率的显著因子, 最佳提取工艺条件为粉碎度120目, 加14倍量75%乙醇于60℃提取2h, 搅拌速度90 r·min⁻¹; 总黄酮平均提取率17.49% (RSD 0.63%)。**结论:** 优选的提取工艺稳定可行, 适用于酸荔枝核中抗乙肝总黄酮类化合物的工业化生产。

[关键词] 响应曲面法; 酸荔枝核; 抗乙肝成分; 总黄酮

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0041-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180041

Optimization of Extraction Process for Anti Hepatitis B Constituents from Acid Litchi Semen by Response Surface Methodology

CHEN Hua-ni¹, PAN Jie-ping², HUANG Xiao-dan², LI Zheng-zhong², QIAN Li^{2*}

(1. Baise University, Baise 533000, China;

2. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extracting process of total flavonoids from acid Litchi Semen. **Method:** Taking rutin as standard, the content of total flavonoids was determined by UV. With yield of total flavonoids as index, on the basis of single factor tests, Box-Behnken and Plackett-Burman tests were adopted to optimize extraction process by taking temperature, grinding degree, ethanol concentration, liquid-solid ratio, extracting time and stirring speed as factors. **Result:** Grinding degree and ethanol concentration were significant factors, optimum extraction technology was as following: grinding degree of 120 mesh, extracted 2 h with 14 times

[收稿日期] 20140108(021)

[基金项目] 广西教育厅优秀人才培养项目(20124147); 广西高校大学生创新计划项目(QJXC201335); 广西教育厅科研项目(201010LX373, 201106LX441, 200103YB114)

[第一作者] 陈华妮, 硕士, 讲师, 从事降糖药物研究, Tel: 13977660837, E-mail: chenhuani@126.com

[通讯作者] * 钱力, 博士, 副教授, 从事药物开发研究, Tel: 0776-2849498, E-mail: qianli1656@126.com

10 h后, 其含量未见明显变化; 但在酸、碱条件下极不稳定, 室温放置30 min内降低>50%, 放置3 h后均检测不到; 在100℃加热75 min后全部生成黑色沉淀物。但将6种糖与梓醇混合后于100℃加热10 h时, 梓醇含量未见明显降低, 可能地黄中其他成分的存在对其聚合反应起到了一定作用^[4]。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北

京: 中国医药科技出版社, 2010: 1175.

[2] 何思煌, 孙春燕, 祝红. 湿毒清胶囊质量标准研究[J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(1): 36.

[3] 刘鹤香, 曹中亮, 常东明, 等. 怀地黄的降压镇静抗炎作用及有效部分分析[J]. 新乡医学院学报, 1998, 15(3): 219.

[4] 王宏洁, 边宝林, 杨健. 地黄中梓醇变化条件的探讨[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(7): 408.

[责任编辑 刘德文]