

# 基于指标成分和药效学优选肠康颗粒的醇沉工艺

华俊磊<sup>1,2</sup>, 丁永芳<sup>2</sup>, 陆敏<sup>2</sup>, 沈明勤<sup>2</sup>, 鞠建明<sup>2\*</sup>, 李松林<sup>2\*</sup>, 李振华<sup>1,2</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2. 江苏省中医药研究院, 南京 210028)

**[摘要]** **目的:** 优选肠康颗粒的醇沉工艺并从药效学角度考察醇沉工艺的合理性。**方法:** 以除杂率和金丝桃苷、盐酸小檗碱、芍药苷、升麻素苷含量的综合评分为指标, 通过单因素试验考察醇沉浓度和清膏相对密度对醇沉工艺的影响, 采用小鼠肠推进试验比较肠康颗粒水提清膏醇沉前后的药效。**结果:** 最佳醇沉工艺条件为提取液浓缩至相对密度 1.13 (70 ℃) 的清膏, 加 95% 乙醇醇沉含醇量 85%。**结论:** 优选的醇沉工艺达到了较好的去杂效果并充分保留了药效, 为水提醇沉工艺的科学性提供实验依据。

**[关键词]** 肠康颗粒; 醇沉工艺; 药效学; 小鼠肠推进试验; 单因素试验

**[中图分类号]** R283.6; R284.2; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0016-04

**[doi]** 10.11653/syfy2014040016

## Optimization of Alcohol Precipitation Technology of Changkang Granules Based on Index Components and Pharmacodynamics

HUA Jun-lei<sup>1,2</sup>, DING Yong-fang<sup>2</sup>, LU Min<sup>2</sup>, SHEN Ming-qin<sup>2</sup>,  
JU Jian-ming<sup>2\*</sup>, LI Song-lin<sup>2\*</sup>, LI Zhen-hua<sup>1,2</sup>

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;  
2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize alcohol precipitation technology of changkang granule, and investigate rationality of alcohol precipitation technology by pharmacodynamics. **Method:** With impurity removal rate and contents of multi-component (hyperoside, berberine, paeoniflorin and prim-O-glucosylcimifugin) as comprehensive evaluation index, single-factor tests were used to optimize alcohol precipitation technology by taking the concentration of alcohol precipitation and relative density of extract as factors, efficacy of water extract before and after alcohol precipitation was compared through intestinal propulsion test of mice. **Result:** Optimum alcohol precipitation process was as follows: concentrated extracting liquid to relative density of 1.13 (70 ℃), added 95% ethanol until the concentration of ethanol to 85%. **Conclusion:** Good impurity cleaning effect was obtained by optimized alcohol precipitation technology and efficacy was fully kept, it provided experimental basis for scientificity of water extraction-alcohol precipitation technology.

**[Key words]** Changkang granules; alcohol precipitation technology; pharmacodynamics; intestinal propulsion test; single factor test

**[收稿日期]** 20130701(010)

**[基金项目]** 江苏省科技支撑计划——社会发展项目(BE2012776); 江苏省中医药研究院新药研发项目(Y1206)

**[第一作者]** 华俊磊, 在读硕士, 从事中药新剂型新工艺研究, Tel: 15950567929, E-mail: okmijn\_001@163.com

**[通讯作者]** \* 鞠建明, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药新剂型、新工艺及质量控制研究, Tel: 025-85639640, E-mail: jjm405@sina.com;

\* 李松林, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药效物质、质量控制和新产品研发, Tel: 025-85639640, E-mail: songlinli64@126.com

肠康颗粒为江苏省中西医结合医院王德明教授临床经验方,由熟地黄、菟丝子、黄连、防风、白芍、金荞麦等药味组成,具有交通心肾、调和肝脾之功效,用于治疗肠易激综合征<sup>[1-2]</sup>。中药醇沉处理是制剂过程中常用的纯化方法,既可减少服用剂量又能获得良好的成型性<sup>[3-4]</sup>,但醇沉工艺研究时仅考察几个指标成分或活性成分并不能代表整个复方的药效,目前有关醇沉工艺对药效影响的研究鲜有报道。本实验选择肠康颗粒为研究对象,采用单因素试验考察药液相对密度及醇沉浓度对除杂率和金丝桃苷、盐酸小檗碱、芍药苷等指标成分含量的影响,同时结合小鼠肠推进试验比较该制剂水提液醇沉前后的药效,为中药醇沉工艺的合理性提供实验依据。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱仪(996 型二极管阵列检测器,Empower 色谱工作站,美国 Waters 公司),AT201 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),Milli-Q 型纯水器(美国 Millipore 公司)。金丝桃苷、盐酸小檗碱、芍药苷、升麻素苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111521-201004,110713-200911,110736-201136,111522-201008),熟地黄等药材(均购于四川新荷花中药饮片股份有限公司,经江苏省中医药研究院李松林研究员鉴定均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下要求),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 肠康颗粒水提液的制备** 在前期研究基础上,按处方比例称取熟地黄等饮片共 712 g,加 12 倍量水提取 3 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,冷藏备用。

**2.2 除杂率的测定** 精密吸取水提液 5 mL,置于干燥至恒重并称重的蒸发皿中,水浴蒸干,置于 105 ℃烘箱中干燥 3 h 至恒重,取出,迅速置干燥器中,平衡 30 min,称定质量,计算干膏得率和除杂率。

$$\text{除杂率} = (\text{水提液干膏得率} - \text{醇沉液干膏得率}) / \text{水提液干膏得率} \times 100\%$$

### 2.3 金丝桃苷的含量测定<sup>[5]</sup>

**2.3.1 色谱条件** Alltima C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸(15:85),检测波长 360 nm,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 35 ℃。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取适量金丝桃苷对照品,用甲醇超声溶解并定容,制成 0.040 2 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3.3 标准曲线的建立** 精密吸取对照品溶液 1,

4,8,16,20,25 μL 注入液相色谱仪,按 **2.3.1** 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 1.48 \times 10^6 X - 3.21 \times 10^3$  ( $r = 0.999 6$ ),线性范围 0.040 2 ~ 1.005 μg。

### 2.4 盐酸小檗碱的含量测定<sup>[6]</sup>

**2.4.1 色谱条件** Alltima C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾(每 100 mL 中加十二烷基硫酸钠 0.4 g,用磷酸调节 pH 4.0)(50:50),检测波长 345 nm,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 35 ℃。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 精密称取适量盐酸小檗碱对照品,用甲醇超声溶解并定容,制成 0.120 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.4.3 标准曲线的建立** 精密吸取对照品溶液 2,4,8,10,12,18 μL 注入液相色谱仪,按 **2.4.1** 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 3.91 \times 10^6 X - 2.27 \times 10^4$  ( $r = 0.999 9$ ),表明盐酸小檗碱进样量在 0.24 ~ 2.16 μg 与峰面积呈良好线性关系。

### 2.5 芍药苷、升麻素苷的含量测定

**2.5.1 色谱条件** Alltima C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(12:88),检测波长分别为 230,254 nm,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 35 ℃。

**2.5.2 对照品溶液的制备** 精密称取适量芍药苷、升麻素苷对照品,用甲醇超声溶解并定容,分别制成 0.300,0.015 9 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.5.3 标准曲线的建立** 精密吸取混合对照品溶液 5,10,15,20,25,30 μL 注入液相色谱仪,按 **2.5.1** 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得芍药苷、升麻素苷的回归方程分别为  $Y = 1.19 \times 10^6 X - 1.11 \times 10^5$  ( $r = 0.999 7$ ),  $Y = 1.6 \times 10^6 X + 8.52 \times 10^3$  ( $r = 0.999 7$ ),线性范围分别为 1.50 ~ 9.00,0.08 ~ 0.477 μg。

**2.5.4 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,按 **2.5.1** 项下色谱条件测定,结果芍药苷、升麻素苷峰面积的 RSD 分别为 0.70%,0.46%,表明仪器精密度良好。

**2.5.5 重复性试验** 取同一醇沉液 6 份,按 **2.5.1** 项下色谱条件测定,结果芍药苷、升麻素苷峰面积的 RSD 分别为 1.20%,1.12%,说明该方法重复性良好。

**2.5.6 稳定性试验** 取同一醇沉液,分别于 0,2,4,6,8,10 h 进样,按 **2.5.1** 项下色谱条件测定,结果芍药苷、升麻素苷峰面积的 RSD 分别为 0.73%,

0.54%, 表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

**2.5.7 加样回收率试验** 取已知含量的同一醇沉液 6 份, 各加入相同量的芍药苷和升麻素苷对照品, 按 2.5.1 项下色谱条件测定, 记录峰面积, 计算芍药苷、升麻素苷平均加样回收率分别为 102.35%, 100.46%, RSD 分别为 2.25%, 2.78%。

**2.6 醇沉工艺优选<sup>[7-8]</sup>** 以金丝桃苷、盐酸小檗碱、芍药苷、升麻素苷含量和除杂率的综合评分为指标优选醇沉工艺, 综合评分 = (除杂率/最大除杂率) × 20 + (金丝桃苷含量/最大金丝桃苷含量) × 20 + (盐酸小檗碱含量/最大盐酸小檗碱含量) × 20 + (芍药苷含量/最大芍药苷含量) × 20 + (升麻素苷含量/最大升麻素苷含量) × 20。

**2.6.1 醇沉浓度考察** 将水提液减压浓缩成相对密度 1.13 (70 °C) 的清膏, 冷却至室温, 精密量取 30 mL, 边搅拌边加入 95% 乙醇至清膏中乙醇的体积分数分别为 55%, 70%, 85%, 常温静置 24 h, 抽滤, 测定滤液体积, 每个体积分数平行 2 份样品, 测定滤液中金丝桃苷、盐酸小檗碱、芍药苷、升麻素苷含量, 结果见表 1, 故选择 85% 乙醇沉淀。

表 1 醇沉浓度对肠康颗粒醇沉工艺的影响

醇沉浓度 / %	金丝桃苷 / mg · g <sup>-1</sup>	盐酸小檗碱 / mg · g <sup>-1</sup>	芍药苷 / mg · g <sup>-1</sup>	升麻素苷 / mg · g <sup>-1</sup>	除杂率 / %	综合评分
55	1.50	11.15	12.75	2.88	43.56	83.34
70	1.68	12.54	13.73	3.11	48.90	92.00
85	1.70	14.02	14.82	3.37	52.80	98.84
醇沉前	1.82	17.68	16.07	3.69	-	-

**2.6.2 清膏相对密度考察** 分别将提取液减压浓缩至相对密度为 1.07, 1.10, 1.13, 1.16 (70 °C) 的清膏, 冷却至室温, 精密量取 20 mL, 各加入 95% 乙醇至清膏中乙醇的体积分数 85%, 常温静置过夜, 抽滤, 测定滤液体积, 每个相对密度平行 2 份样品, 测定滤液金丝桃苷、盐酸小檗碱、芍药苷、升麻素苷含量, 结果见表 2, 故选择清膏相对密度 1.13 (70 °C)。

表 2 清膏相对密度对肠康颗粒醇沉工艺的影响

相对密度 / %	金丝桃苷 / mg · g <sup>-1</sup>	盐酸小檗碱 / mg · g <sup>-1</sup>	芍药苷 / mg · g <sup>-1</sup>	升麻素苷 / mg · g <sup>-1</sup>	除杂率 / %	综合评分
1.07	1.41	14.07	14.24	3.50	49.61	93.92
1.10	1.46	13.53	13.92	3.40	55.19	94.65
1.13	1.47	13.39	14.03	3.43	58.06	95.88
1.16	1.45	12.69	13.66	3.34	60.91	94.46
醇沉前	1.57	17.85	14.80	3.70	-	-

**2.7 小鼠肠推进试验** 将健康 KM 小鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性药组、醇沉前组、醇沉组。分别记录每只动物体质量, 适应性正常饲养。药物组灌胃给予受试药物, 醇沉组和醇沉前组各分为大、中、小、极小生药给药剂量组, 阳性药组灌胃给予盐酸洛哌丁胺 (给药体积 20 mL · kg<sup>-1</sup>)。正常对照组与模型组给予同体积蒸馏水, 连续 3 d。动物处理前禁食不禁水 20 h, 末次药后 30 min, 除正常对照组外, 每组皮下注射甲基硫酸新斯的明 0.12 mg · kg<sup>-1</sup>, 15 min 后各组灌胃 2% 酚红-淀粉液, 25 min 后颈部脱臼处死小鼠, 迅速解剖剪取上起幽门, 下至回盲部的肠管, 置于托盘中, 轻轻将小肠拉成直线, 测量小肠总长度和酚红在肠道中推进的距离, 计算推进率, 结果见表 3。表明与模型组比较, 醇沉组对由新斯的明引起的肠推进亢进具有明显的抑制作用 (P < 0.01); 与醇沉前组比较, 相同给药剂量的两组间比较无显著性差异, 说明醇沉前后药效未发生明显变化。

$$\text{推进率} = \text{酚红在肠内推进距离} / \text{小肠总长度} \times 100\%$$

表 3 肠康方颗粒剂醇沉前后对小鼠肠推进的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	剂量 / g · kg <sup>-1</sup>	推进率 / %
正常对照	10	-	57.45 ± 14.37
模型	10	-	76.13 ± 11.41 <sup>2)</sup>
阳性药	10	0.27 × 10 <sup>-3</sup>	53.14 ± 6.34 <sup>1)</sup>
醇沉前	10	1.875	66.10 ± 11.09
	11	3.75	58.57 ± 6.95 <sup>1)</sup>
	11	7.5	56.91 ± 12.85 <sup>1)</sup>
	10	15	48.14 ± 10.29 <sup>1)</sup>
醇沉	11	1.875	73.38 ± 6.35
	11	3.75	61.91 ± 6.82 <sup>1)</sup>
	12	7.5	52.82 ± 5.82 <sup>1)</sup>
	10	15	49.65 ± 6.17 <sup>1)</sup>

注: 与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.01; 与正常对照组比较<sup>2)</sup> P < 0.01。

### 3 讨论

经过醇沉工艺后, 提取液干膏得率降至 10%, 金丝桃苷、芍药苷等指标性成分转移率均 > 90%, 说明本工艺在保留了药效成分的同时降低了固形物得率, 减少了服用剂量。由于中药复方制剂成分复杂, 选择一个或多个成分作为参考指标并不能进行充分地评价, 而结合复方主治的药效学指标对精制效果进行验证更精确<sup>[9]</sup>。

小鼠肠推进试验显示醇沉组和醇沉前组均对由新斯的明引起的肠推进亢进有明显的抑制作用, 并

# 不同煎煮方式对柴芍肠宁胶囊中盐酸小檗碱含量的影响

刘耀<sup>1</sup>, 张永萍<sup>1\*</sup>, 唐云<sup>1</sup>, 王万莲<sup>1</sup>, 徐剑<sup>1</sup>, 胡文言<sup>2</sup>, 叶祖光<sup>3</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 北京天地外医药科技有限公司, 北京 100086;  
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 建立柴芍肠宁胶囊中盐酸小檗碱的含量测定方法, 考察不同煎煮方式对盐酸小檗碱含量的影响。方法: 采用 HPLC 测定盐酸小檗碱含量, DIKMA ODS-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸(每 100 mL 加十二烷基磺酸钠 0.1 g)(50:50), 检测波长 345 nm。考察黄连与其他药味合煎或分煎时对盐酸小檗碱含量的影响。结果: 盐酸小檗碱在 2.4 ~ 24 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好( $r=1$ ), 平均回收率 101.14%, RSD 2.48%。分煎、合煎样品中盐酸小檗碱平均质量分数分别为 0.128 2, 0.078 6 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 依次为 1.02%, 1.25%。结论: 黄连与其他药味分煎时盐酸小檗碱含量显著高于合煎, 为柴芍肠宁胶囊的临床应用提供参考。

**[关键词]** 柴芍肠宁胶囊; 合煎; 分煎; 盐酸小檗碱; 黄连

**[中图分类号]** R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0019-03

**[doi]** 10.11653/syjf2014040019

## Effects of Different Decoction Ways on Content of Berberine in Chaishao Changning Capsules

LIU Yao<sup>1</sup>, ZHANG Yong-ping<sup>1\*</sup>, TANG Yun<sup>1</sup>, WANG Wan-lian<sup>1</sup>, XU Jian<sup>1</sup>, HU Wen-yan<sup>2</sup>, YE Zu-guang<sup>3</sup>

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Beijing Outworld Medical Technology Co. Ltd, Beijing 100086, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[收稿日期]** 20130927(018)

**[基金项目]** 重大“新药创制”国家科技重大专项(2012ZX09101); 第二批国家级大学生创新创业训练计划项目(201210662002); 黔教高发([2012]426号)

**[第一作者]** 刘耀, 在读硕士, 从事药物制剂研究, Tel: 13668500680, E-mail: 253237643@qq.com

**[通讯作者]** \*张永萍, 教授, 从事药物制剂研究, Tel: 0851-5652704, E-mail: gzzhy@126.com

且同剂量给药的两组进行比较无显著性差异, 表明肠康颗粒经醇沉精制后仍能很好的保留药效, 为肠康颗粒的临床应用提供确切的实验依据。

### [参考文献]

- [1] 陆敏, 王德明. 王德明以心肾不交论治肠易激综合征经验[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(1): 37.
- [2] 陆敏, 黄厚才, 钟荣玲, 等. 肠康方对肠易激综合征内脏高敏感模型大鼠的作用[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2012, 20(1): 15.
- [3] 孙玉琦, 刘晓娟, 代春美, 等. 中药醇沉技术应用与评价[J]. 中成药, 2010, 32(11): 1961.
- [4] 袁淑婧, 范玲, 周琴妹. 清咽口含片醇沉工艺优选

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21): 25.

- [5] 杨娟, 金冠钦, 孙黎, 等. HPLC 法测定黄麦合剂中金丝桃苷的含量[J]. 中国药师, 2012, 15(12): 1739.
- [6] 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: 285.
- [7] 蔡鹰, 丁安伟. 利咽含片醇沉工艺的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(2): 16.
- [8] 李天辰, 沈侃, 韩伟. 益气散聚方的水提醇沉工艺研究[J]. 中成药, 2012, 34(11): 2257.
- [9] 罗友华, 李成付, 杨辉, 等. 咽舒宁复方水提液醇沉精制工艺优选研究[J]. 福建医药杂志, 2010, 32(5): 71.

[责任编辑 全燕]