

## 六味地黄丸动态提取工艺优选

朱丽<sup>1</sup>, 颜冬兰<sup>1</sup>, 谷陟欣<sup>1</sup>, 周芳<sup>1</sup>, 刘淑蚌<sup>1</sup>, 袁莉<sup>1</sup>, 徐文泉<sup>2\*</sup>

(1. 九芝堂股份有限公司, 长沙 410021; 2. 北京航空航天大学体育部, 北京 100191)

**[摘要]** **目的:**探讨强制循环动态提取工艺对六味地黄丸复方提取效果的影响。**方法:**以干膏率、马钱苷提取量为评价指标,在不改变本品现有标准中提取次数的前提下,采用正交试验考察加水量和提取时间对六味地黄丸动态提取工艺的影响,并与传统提取方法进行比较。采用HPLC测定马钱苷含量,流动相四氢呋喃-甲醇-乙腈-0.05%磷酸溶液(1:4:8:87),检测波长236 nm。**结果:**加水量对干膏率和马钱苷提取量的影响具有显著性差异,提取时间则无显著性差异。六味地黄丸的最佳动态提取工艺为加3倍量水提取2次,每次1 h;马钱苷平均提取量分别为1.068 mg·g<sup>-1</sup>,平均干膏率25.75%。**结论:**优选的提取工艺稳定可行,具有节能、省时、提取率高等特点,适用于六味地黄丸的工业化生产。

**[关键词]** 动态提取工艺; 六味地黄丸; 干膏率; 马钱苷; 正交试验

**[中图分类号]** R284.2; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0019-03

**[doi]** 10.11653/syfyj2014020019

## Optimization of Dynamic Extraction Technology of Liuwei Dihuang Pills

ZHU Li<sup>1</sup>, YAN Dong-lan<sup>1</sup>, GU Zhi-xin<sup>1</sup>, ZHOU Fang<sup>1</sup>, LIU Shu-feng<sup>1</sup>, YUAN Li<sup>1</sup>, XU Wen-quan<sup>2\*</sup>

(1. Jiuzhitang Co. Ltd, Changsha 410021, China;

2. Section of Sports Beijing University of Aeronautics and Astronautics, Beijing 100191, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate influence of forced circulation dynamic technology upon extraction effect of Liuwei Dihuang pills. **Method:** With extraction ratio of loganin and dry extract ratio as indicators, under premise of extraction times without changing from the existing standard of the product, orthogonal design was used to investigate effects of the amount of adding water and extraction time on dynamic extraction technology of Liuwei Dihuang pills, and compared with traditional extraction methods. HPLC was established to determine the content of loganin with mobile phase of tetrahydrofuran-methanol-acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (1:4:8:87) and detection wavelength of 236 nm. **Result:** The amount of adding water had significant difference influence on extraction amount of loganin and dry extract ratio, but extraction time had no significant difference. Optimum dynamic extraction technology was as following: extracted twice with three times the amount of water, one hour per time; Average extraction amount of loganin was 1.068 mg·g<sup>-1</sup>, average rate of dry extract was 25.75%. **Conclusion:** This optimized technology was stable and feasible with characteristics of energy saving, time-saving, high extraction rate and so on, it was suitable for industrial production of Liuwei Dihuang pills.

**[Key words]** dynamic extraction technology; Liuwei Dihuang pills; dry extract ratio; loganin; orthogonal test

六味地黄丸(浓缩丸)为2010年版《中国药典》(一部)收载品种<sup>[1]</sup>,为滋阴补肾的经典代表方剂,

被广泛运用于治疗肝肾阴虚、腰膝酸软、盗汗遗精等疾病,疗效显著。现代药理研究表明,该方具有抗衰

**[收稿日期]** 20130613(012)

**[基金项目]** 长沙市重大专项-中药创新关键技术研究及产业化项目(K1204019-13)

**[第一作者]** 朱丽,高级工程师,从事中药新药开发研究,Tel:0731-85353907,E-mail:zys@hnjzt.com

**[通讯作者]** \*徐文泉,硕士,副教授,从事运动心理学研究,Tel:13161875143,E-mail:1969110@sina.com

老、抗肿瘤、治疗老年痴呆及调节免疫功能的显著效果<sup>[2-4]</sup>。目前本品采用的提取方式为传统常压煎煮提取法,存在提取温度高、耗时长能耗高、有效成分损失多等问题。动态提取工艺是在增加药材比表面积的情况下,利用机械手段,采用强制循环方式以增加固-液相接触的方法。该技术在保留传统中药提取特点的基础上,还具有保证中药有效组分群基本不变、得膏率高、可实现全自动控制等优点,可使药材与溶剂间在提取过程中始终保持相对浓度差,从而提高药材中溶质向溶剂的溶出效率,目前主要提取方式有由上至下强制循环顺流式和由下至上强制循环逆流式<sup>[5-8]</sup>。本实验采用由上至下强制循环顺流式的动态提取技术,以马钱苷和干膏率为考察指标,在不改变现有六味地黄丸(浓缩丸)标准中提取次数的前提下,结合现有生产实际,通过正交试验优选提取工艺条件,为该制剂的工艺改进提供参考。

### 1 材料

2695-2998 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),CP114 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯集团)。熟地黄、山茱萸、牡丹皮、山药、茯苓和泽泻(均购于湖南松龄堂中药饮片有限公司,经九芝堂股份有限公司质量中心舒畅工程师鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相应药材项下规定),马钱苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111640-201005),乙腈、甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 提取液的制备** 六味地黄丸处方由熟地黄 120 g、酒萸肉 60 g、牡丹皮 45 g、山药 60 g、茯苓 45 g、泽泻 45 g 共 6 味中药组成。称取 10 倍处方量药材,牡丹皮用水蒸气蒸馏法提取挥发性成分,药渣

与酒萸肉 200 g、熟地黄、茯苓、泽泻一起加水动态提取 2 次,提取液滤过,合并,浓缩成稠膏,即得。

### 2.2 马钱苷的含量测定<sup>[1]</sup>

**2.2.1 色谱条件** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相四氢呋喃-甲醇-乙腈-0.05% 磷酸溶液(1:4:8:87),柱温 40 ℃,检测波长 236 nm,进样量 10 μL。理论板数按马钱苷峰计算不低于 4 000。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取马钱苷对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成 20 mg·L<sup>-1</sup> 的溶液,即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品适量,研细,精密称取约 0.4 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,加至中性氧化铝柱(100~200 目,4 g,内径 1 cm)上,用 40% 甲醇 50 mL 洗脱,收集流出液及洗脱液,蒸干,残渣用 50% 甲醇溶解,并转移至 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.3 正交试验优选** 在预试验基础上,保持提取次数和投料药材切片度与现有生产一致,选择加水倍数和提取时间为考察因素,各因素取 3 个水平,结合生产实际需要和可操作性考虑,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3,4。

表 1 六味地黄丸动态提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/h
1	2.5,2.5	1.0,1.0
2	3.0,2.5	1.5,1.0
3	3.0,3.0	1.5,1.5

表 2 六味地黄丸动态提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	A × B	C(空白)	干膏率/%	马钱苷提取量/mg·g <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	25.28	1.096
2	1	2	2	2	26.1	0.980
3	1	3	3	3	26.2	0.973
4	2	1	2	3	25.05	1.002
5	2	2	3	1	25.38	0.964
6	2	3	1	2	26.55	0.982
7	3	1	3	2	26.25	1.113
8	3	2	1	3	27.55	1.067
9	3	3	2	1	27.36	1.041

续表

指标		A	B	A×B	C(空白)	干膏率/%	马钱苷提取量/mg·g <sup>-1</sup>
干膏率	K <sub>1</sub>	77.58	76.58	79.38	78.02		
	K <sub>2</sub>	76.98	79.03	78.51	78.90		
	K <sub>3</sub>	81.16	80.11	77.83	78.80		
	R	1.39	1.17	0.52	0.29		
马钱苷提取量	K <sub>1</sub>	3.05	3.21	3.15	3.10		
	K <sub>2</sub>	2.95	3.01	3.02	3.08		
	K <sub>3</sub>	3.22	3.00	3.05	3.04		
	R	0.09	0.07	0.043	0.02		

注:试验采用同一批酒萸肉药材,马钱苷质量分数0.74%。

表3 干膏率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	3.405 4	2	1.702 7	22.005 2	<0.05
B	2.181 1	2	1.090 5	14.093 8	>0.05
A×B	0.402 4	2	0.201 2	2.600 4	>0.05
C(误差)	0.154 8	2	0.077 4		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ (表4同)。

表4 马钱苷提取量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.012 7	2	0.006 4	21.790 7	<0.05
B	0.009 6	2	0.004 8	16.479 2	>0.05
A×B	0.002 7	2	0.001 4	4.696 5	>0.05
C(误差)	0.000 6	2	0.000 3		

由直观分析可知,各因素对干膏率和马钱苷提取量的影响顺序均为  $A > B$ 。方差分析表明 A 因素对动态提取工艺的影响具有显著性差异, B 因素则无显著性意义, A, B 因素的交互作用影响亦无显著性影响。以干膏率、马钱苷提取量为指标确定的水提工艺条件分别为  $A_3B_2$ ,  $A_3B_1$ 。

六味地黄丸现有工艺生产的干膏率约 23%, 马钱苷转移率约 65%。正交表中马钱苷含量折算成转移率均  $> 65%$ , 而水提条件  $A_3B_1$  的干膏率 26.25%, 仅比  $A_3B_2$  小 1.3%, 但马钱苷提取量最高, 同时提取时间缩短了 0.5 h, 故确定最佳动态提取工艺条件为  $A_3B_1$ , 即用 3 倍量水提取 2 次, 每次 1 h。

**2.4 验证试验** 称取 40 倍处方量药材, 制备 3 批浓缩六味地黄丸, 结果马钱苷提取量分别为 1.056, 1.062, 1.087 mg·g<sup>-1</sup>, 干膏率分别为 26.26%, 25.80%, 25.19%。

### 3 讨论

与六味地黄丸现有生产工艺相比, 采用强制循环动态提取工艺在提取次数一致及干膏率、马钱苷转移率接近的前提下, 提取时间缩短了 50%, 具有

提取效率高、省时、溶媒用量少等优点。

中药材及天然植物原料中有效成分的提取过程是溶质由固相传递到液相的传质过程。按扩散理论解释就是溶质从高浓度向低浓度方向渗透的过程, 其浸出扩散力源于提取溶媒和固体药材组织内有效成分的浓度差, 浓度差越大, 扩散传质的动力越大, 浸出速度越快, 有效成分浸出率越高。要达到快速、完全的浸出目的, 就必须经常更新固液两相界面层, 使药材组织中溶质与浸出液中的溶质, 在单位时间内能保持一个较高的浓度差。动态提取就是通过不断更新固液两相界面, 从而在较高浓度差情况下实现对药材有效成分的高效提取。目前动态循环提取工艺的研究主要集中于单味中药, 中药复方在该领域的研究资料较少, 由于设备制造因素, 几乎所有的研究实例均为中试规模, 实验室对该方法的研究较少, 限制了该方法基础研究的深入。

### [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: 598.
- [2] 王燕, 刘建文, 王倩. 六味地黄丸的药理研究与临床应用[J]. 临床合理用药杂志, 2011, 4(2): 45.
- [3] 王红梅, 宋彩梅, 刘新民, 等. 六味地黄丸对肾虚型老年痴呆动物模型的改善作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 112.
- [4] 陈乔, 李征峰, 李青, 等. 六味地黄丸对老年大鼠学习记忆及脑内 M1 胆碱受体阳性神经元的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 205.
- [5] 王晓武, 赵明, 高瑞华. 中药动态提取及产业化研究进展[J]. 北方药学, 2011, 8(2): 49.
- [6] 王溶溶. 鸡血藤动态逆流连续循环提取工艺的研究[J]. 中成药, 2003, 25(5): 358.
- [7] 继成. 中药现代生产新工艺: 动态提取技术[J]. 制药原料及中间体信息, 2006, 22(10): 23.
- [8] 王颖玉, 潘立. 动态连续阶段逆流提取工艺分析与研究[J]. 浙江工业大学学报, 2007, 35(1): 105.

[责任编辑 全燕]