

骨松健骨颗粒的提取工艺优选

杜天信^{1,2}, 殷娜^{2*}, 杜志谦^{1,2}, 李洁¹, 王秀真², 罗石任², 张毅²
(1. 河南省正骨研究院, 河南 洛阳 471000; 2. 河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 优选骨松健骨颗粒的提取工艺。方法: 采用正交试验法, 以淫羊藿苷提取量和干膏得率为指标, 考察加水量、煎煮时间、煎煮次数对提取工艺的影响。结果: 最佳提取工艺为加 10 倍量水煎煮 3 次, 每次 1 h。结论: 优选的工艺合理可行, 提取效率高, 适用于工业化生产。

[关键词] 骨松健骨颗粒; 提取工艺; 淫羊藿苷; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0050-03

[doi] 10.11653/syfy2013170050

Optimization of Extraction Process of Gusong Jiangu Granules

DU Tian-xin^{1,2}, YIN Na^{2*}, DU Zhi-qian^{1,2}, LI Jie¹, WANG Xiu-zhen², LUO Shi-ren², ZHANG Yi²
(1. Henan Institute of Orthopedic-Traumatological, Luoyang 471000, China;
2. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology for Gusong Jiangu granules. **Method:** With yield of icariin and dry extract as indexes, orthogonal test was adopted to optimize extraction technology of Gusong Jiangu granules by taking the amount of water, extraction time and extraction times as factors. **Result:** Optimum extraction process was as following: extracted 3 times with 10 times the amount of water, 1 h each time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was effective, reasonable, feasible and applicable for industrial production.

[Key words] Gusong Jiangu granules; extraction process; icariin; orthogonal test

骨松健骨颗粒处方来源于河南省正骨医院的经验方, 由淫羊藿、熟地黄、山茱萸等 8 味中药组成, 具有滋补肝肾、填精补髓、化痰通络、壮骨止痛之功效, 临床主要用于肾虚型骨质疏松症的治疗。在保证制剂质量基础上, 本实验根据处方中药物的化学成分及理化性质, 结合处方的功能主治, 采用正交试验设计优选该制剂的提取工艺^[1-4], 为其工业化生产提供参考。

1 材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (G1315B 型

DAD 检测器, Agilent 化学工作站, 美国安捷伦公司), XS205DU 型电子分析天平 (瑞士梅特勒)。淫羊藿苷对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110737-200415), 中药饮片均购于洛阳康鑫中药饮片有限公司, 经河南省洛阳正骨医院杜志谦研究员鉴定均符合《中国药典》2010 年版一部的相关项下规定。乙腈、甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 淫羊藿苷的含量测定

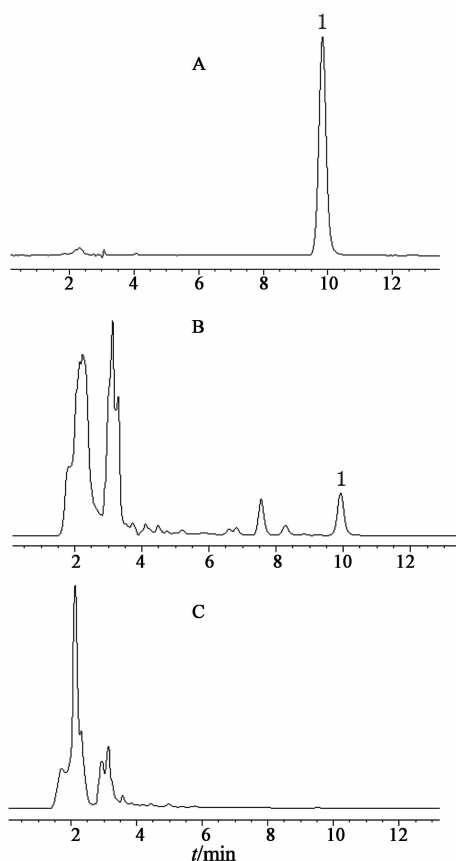
2.1.1 色谱条件 Agilent C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (29:71), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C, 检测波长 270 nm, 进样量 20 μL。理论塔板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 1 500, 见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取经减压干燥

[收稿日期] 20130301(008)

[第一作者] 杜天信, 研究员, 从事药物分析研究, Tel: 13937913221

[通讯作者] * 殷娜, 在读硕士, 从事中药复方制剂质量控制研究, Tel: 15036006876, E-mail: 15036006876@163.com



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 淫羊藿苷

图1 骨松健骨颗粒 HPLC

的淫羊藿苷对照品 1.20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密吸取提取液 2 mL 置于蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣用稀乙醇溶解后转移至 10 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 阴性样品溶液的制备 按处方比例称取除淫羊藿外其他药味, 按一定条件进行提取, 按 2.1.3 项下方法制备阴性样品溶液。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取淫羊藿苷对照品贮备溶液 ($0.467 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL, 分别置于 1 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得回归方程 $Y = 30.015X + 48.121$ ($r = 0.9997$), 表明淫羊藿苷在 0.934 ~ 6.538 μg 呈良好线性关系。

2.1.6 精密度试验 精密吸取 2.1.2 项下对照品溶液 20 μL , 重复进样 6 次, 测定, 结果峰面积的

RSD 1.22%, 表明仪器精密度良好。

2.2 干膏得率的测定^[6] 精密吸取提取液 25 mL, 转移置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 于烘箱中 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 3 h, 置干燥器中冷却 30 min, 迅速精密称定质量, 计算干浸膏得率。

2.3 提取工艺优选^[5] 以淫羊藿苷提取量和干浸膏得率为指标, 选取加水量、煎煮时间及煎煮次数为考察因素, 按处方比例称取淫羊藿、熟地等 8 味药材共 9 份, 每份 105 g, 按 $L_9(3^4)$ 正交设计进行煎煮, 滤过, 合并, 浓缩定容至 150 mL, 备用, 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 骨松健骨颗粒提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 煎煮时间/h	C 煎煮数/次
1	8	1	1
2	10	2	2
3	12	3	3

表2 骨松健骨颗粒提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D (空白)	淫羊藿苷提取量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	干膏得率 / %
1	1	1	1	1	4.41	24.04
2	1	2	2	2	5.24	33.78
3	1	3	3	3	4.59	35.84
4	2	1	2	3	7.74	34.46
5	2	2	3	1	7.90	39.69
6	2	3	1	2	4.25	27.54
7	3	1	3	2	7.27	40.17
8	3	2	1	3	3.79	24.95
9	3	3	2	1	5.47	35.24
淫羊藿苷 K_1	4.747	6.473	4.150	5.927		
提取量 K_2	6.630	5.643	6.150	5.587		
K_3	5.510	4.770	6.587	5.373		
R	1.883	1.703	2.437	0.554		
干浸膏 K_1	31.220	32.890	25.510	32.990		
得率 K_2	33.897	32.807	34.493	33.830		
K_3	33.453	32.873	38.567	31.750		
R	2.677	0.083	13.057	2.080		

由直观分析可知, 各因素对淫羊藿苷提取量和干膏得率的影响顺序均为 $C > A > B$ 。方差分析发现, 以淫羊藿苷提取量与干膏得率为指标时得出一致结果, 因素 C 对提取效果的影响显著, 因素 A, B 影响不显著, 故确定最佳提取工艺为 $A_2B_1C_3$, 即加 10 倍量水煎煮 3 次, 每次 1 h。

表 3 淫羊藿苷提取量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	5.384	2	2.692	11.522	>0.05
B	4.353	2	2.176	9.315	>0.05
C	10.128	2	5.064	21.674	<0.05
D(误差)	0.467	2	0.234		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ (表 4 同)。

表 4 干浸膏得率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	12.349	2	6.174	1.880	>0.05
B	0.012	2	0.006	0.002	>0.05
C	267.769	2	133.884	40.759	<0.05
D(误差)	6.570	2	3.285		

2.4 验证试验^[7] 称取处方量药材 3 份,按优选的提取工艺进行验证试验,结果淫羊藿苷提取量(8.823 ± 0.242) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 2.74%;干浸膏得率(39.297 ± 0.021)%,RSD 0.05%,说明该提取工艺稳定可行。

3 讨论

骨松健骨颗粒原方汤剂临床疗效良好,现代研究表明淫羊藿苷能够多途径的影响成骨细胞及破骨细胞的功能^[8-9];熟地水煎液可有效防治大鼠去卵巢后骨量的丢失^[10];山茱萸水提液能提高骨质疏松模型小鼠抗疲劳能力,升高骨密度和骨钙、骨磷、甲状旁腺素含量^[11]等,与本颗粒剂的功用一致,故确定采用水煎煮提取。

淫羊藿为方中君药,淫羊藿苷为治疗骨质疏松症的主要有效成分,且相关研究报道较为详尽,而干膏得率是评价水提工艺提取效率的传统指标,故选取淫羊藿苷提取量和干膏得率为考察指标。测定淫羊藿苷含量时,在预试验基础上,将文献中流动相比比例调整为乙腈-水(29:71)^[12],色谱峰对称性更好。

本试验仅以化学成分为指标,未结合相关药效学研究,还有待进一步完善。

[参考文献]

[1] 张霞,王荣,杨建宏,等. 正交试验法优选复方芸归颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):35.

[2] 张潮,潘金火,史锁芳,等. 正交试验法优选平喘颗粒的提取纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(18):42.

[3] 杨德斌,仝燕,马振山,等. 正交试验法优选小儿平喘祛痰颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(21):49.

[4] 曹杰,方睿,张海鸣,等. 苓翘抗感颗粒提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):24.

[5] 刘起华,文谨,孙玉雯. 正交试验法优选补肾益髓颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):8.

[6] 王岩,林钦贤,颜婷,等. 三虎痛风颗粒的提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):37.

[7] 叶伟兵,赵琦,张翌春,等. 正交试验法优选板翘解毒颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):47.

[8] 明磊国,王明刚,陈克明,等. 淫羊藿苷对体外培养成人骨髓基质干细胞增殖与成骨性分化的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2010,16(2):100.

[9] 吕明波,刘兴炎,葛宝丰,等. 淫羊藿苷对破骨细胞活性的影响[J]. 中国骨伤,2007,20(8):529.

[10] 盛莉,邢国盛,王毅等. 熟地对去卵巢大鼠骨代谢生化指标及骨密度的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2006,12(5):496.

[11] 袁菊丽,姜红波. 山茱萸的主要化学成分及药理作用[J]. 化学与生物工程,2011,28(5):7.

[12] 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,2010:207.

[责任编辑 仝燕]