

鹿茸氨基酸口服液基础配方开发

胡朝奇¹, 陈新^{1*}, 徐会丹²

(1. 长春中医药大学药学院, 长春 130117; 2. 长春市英平药业有限公司, 长春 130033)

[摘要] 目的: 开发氨基酸口服液的基础配方。方法: 选取同一产地的两份鹿茸细粉, 按提取方法不同分为仿生组和超声组, 比较各组样品中氨基酸含量, 并使用 SIMCA-P 软件进行主成分分析。结果: 两组样本间存在显著性差异, 其中蛋氨酸、脯氨酸、精氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸差异最为明显; 获得核心氨基酸组群配方为蛋氨酸 0.96%, 脯氨酸 11.50%, 精氨酸 8.29%, 苏氨酸 2.64%, 异亮氨酸 1.71%, 苯丙氨酸 2.62%, 缬氨酸 3.46%; 基础氨基酸组群为天门冬氨酸 7.39%, 丝氨酸 4.07%, 谷氨酸 13.31%, 甘氨酸 21.72%, 丙氨酸 10.30%, 亮氨酸 4.64%, 酪氨酸 0.97%, 赖氨酸 5.07%, 组氨酸 1.36%。结论: 鹿茸经人体消化后氨基酸配比与之自然状态下存在一定区别。以鹿茸消化后氨基酸配比为基准, 开发的鹿茸氨基酸口服液可更好地发挥鹿茸的补益功效。

[关键词] 鹿茸; 氨基酸口服液; 配方; 仿生

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0070-04

[doi] 10.11653/syfy2013140070

Development of Based Formulation of *Cervus elaphus* Amino Acid Oral Liquid

HU Chao-qi¹, CHEN Xin^{1*}, XU Hui-dan²

(1. School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. Changchun Yingping Pharmaceutical Co. Ltd, Changchun 130033, China)

[收稿日期] 20130228(006)

[第一作者] 胡朝奇, 在读硕士, 从事中药药效物质基础开发与利用研究, Tel:15044040887, E-mail:xuhu28301@sina.com

[通讯作者] * 陈新, 副教授, 从事中药药效物质基础开发与利用研究, Tel:0431-86172150, E-mail:chenxinjl@126.com

- [5] 许鑫, 涂秀文, 姜海燕, 等. 牻牛儿苗总黄酮提取工艺优化及含量测定研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(8):1953.
- [6] 夏勤, 姚仲青, 高运军. 正交设计法优选鬼针草总黄酮的提取工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(6):755.
- [7] 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, 2010:333.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 附录 IV A, 附录 XIXD.
- [9] 王秀丽, 刘晓涵, 张园园, 等. 水溶性药物羟丙基甲基纤维素骨架缓释片的制备规律探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22):72.
- [10] Chaibva F A, Walker R B. The use of response surface methodology for the formulation and optimization of salbutamol sulfate hydrophilic matrix sustained release tablets[J]. Pharm Dev Technol, 2012, 17(5):594.
- [11] Gurinder S, Roopa S P, Kusum V D. Response surface methodology and process optimization of sustained release pellets using Taguchi orthogonal array design and central composite design[J]. J Adv Pharm Tech Res, 2012, 3(1):30.
- [12] 周珊珊, 谭睿, 谢彬, 等. 葛根素骨架缓释片的研制及体外释放评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3):23.
- [13] 董薇薇, 柯木灵, 关晶, 等. 正交试验设计优选新疆紫草的醇提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4):48.
- [14] 项慧慧, 杨洁红, 傅旭春, 等. 正交试验法优选赶黄草的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4):50.
- [15] 胡鹏翼, 陈青阳, 郑琴, 等. 三七总皂苷微孔渗透泵控释片包衣对体外释药的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6):1346.

[责任编辑 仝燕]

[Abstract] Objective: To develop based formulation of *Cervus elaphus* amino acid oral liquid. **Method:** Selected two *C. elaphus* powder from the same origin, divided into the biomimetic group and the ultrasound group according to different extraction methods. The content of amino acid of different groups was compared, and SIMCA-P statistical software was adopted to do principal component analysis. **Result:** There was a significant difference between samples from two groups, especially methionine, proline, arginine, threonine, isoleucine, phenylalanine and valine. Formulation of core amino acids group was as following: methionine 0.96%, proline 11.50%, arginine 8.29%, threonine 2.64%, isoleucine 1.71%, phenylalanine 2.62% and valine 3.46%; Formulation of based amino acids group was aspartic acid 7.39%, serine 4.07%, glutamic acid 13.31%, glycine 21.72%, alanine 10.30%, leucine 4.64%, tyrosine 0.97%, lysine 5.07%, histidine 1.36%. **Conclusion:** There are some differences in amino acid proportion between the natural state and the digestion state. With amino acids proportion as basis, this developed *C. elaphus* amino acid oral liquid could get better tonic effect of *C. elaphus*.

[Key words] *Cervus elaphus*; amino acid oral liquid; formula; bionic

鹿茸中含有丰富的氨基酸和多肽,是滋补佳品^[1]。目前对鹿茸化学成分的研究多为体外模式,忽视了鹿茸在人体内的消化、吸收过程。决定药材中一个、一种或一组化学物质是否为有效化学成分、有效效应物质是由其在体内行为来确定的,胃肠内和肝内的行为尤为重要,这已成为中药实验医学中关键性基础科学问题^[2]。本实验拟使用仿生提取理论进行鹿茸氨基酸口服液基础配方的开发研究,为鹿茸的开发利用提供依据。

1 材料

L-8800 型氨基酸自动分析仪(日本岛津),飞鸽 LXJ-II B 型低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂)。

鹿茸细粉(80目,由长春中医药大学提供,经长春中医药大学中药鉴定教研室主任姜大成教授鉴定为鹿科动物马鹿 *Cervus elaphus* Linnaeus 的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角,甘氨酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 140689-200802),胃蛋白酶(中国惠世生化试剂有限公司,批号 120408),试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品处理 按样品处理方式不同分为仿生组和自然组,每组 10 份样品。

2.1.1 仿生组 取鹿茸粉 2 g 置于圆底烧瓶中,加入仿生提取溶剂 100 mL,置于旋转蒸发器,于 37 ℃ 旋转提取 1 h,收集提取液,离心 20 min (4 800 r·min⁻¹),收集上清液,将上清液置于蒸发皿中,50 ℃ 水浴蒸干,加水 2 mL 溶解残渣,过滤,收集滤液,将滤液置于 10 mL 量瓶中,加水定容至刻度,即得。

2.1.2 自然组 取鹿茸粉 2 g 置于锥形瓶中,加冰

水 100 mL 超声提取 0.5 h,收集提取液,其余操作同 2.1.1 项,即得。

2.2 氨基酸的检测 用氨基酸自动分析仪,依据 GB/T5009.124-2003 试验方法,待测样品经 6 mol·L⁻¹ 盐酸充分水解等相关操作后,取 10 μL 上机进行检测(检测环境温度 18 ℃,相对湿度 35%),测定每种氨基酸含量。

2.3 数据采集 以 16 种氨基酸与氨基酸总量的配比作为 X 变量, X 变量的数据采集见表 1。

配比 = 单种氨基酸含量/氨基酸总量 × 100%

2.4 PCA 模型拟合 使用 SIMCA-P 11.5 软件进行 PCA 模型拟合,结果见表 2 和图 1~3。

由表 2 可知,两组样品的数据经 PCA 模型拟合后,提取出 2 个主成分,且 $R^2 X(\text{cum}) = 0.829$, $R^2 Y(\text{cum}) = 0.668$,说明模型拟合良好。由图 1,2 可知,仿生组和自然组样品均明显分为 2 类。自然组样品较为集中,说明组内差异较小;仿生组样品较为分散,说明仿生组内差异大于自然组。由图 3 可知,蛋氨酸、脯氨酸、精氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸对分类的贡献值最大,即鹿茸经人体消化后,上述几种氨基酸的配比较其天然氨基酸配比发生了较为显著的变化,故作为核心氨基酸组群。

依据 PCA 分析结果,将鹿茸中 16 种氨基酸分为基础氨基酸组群和核心氨基酸组群。核心氨基酸组群配方为蛋氨酸 0.96%,脯氨酸 11.50%,精氨酸 8.29%,苏氨酸 2.64%,异亮氨酸 1.71%,苯丙氨酸 2.62%,缬氨酸 3.46%;基础氨基酸组群则为天门冬氨酸 7.39%,丝氨酸 4.07%,谷氨酸 13.31%,甘氨酸 21.72%,丙氨酸 10.30%,亮氨酸 4.64%,酪氨酸 0.97%,赖氨酸 5.07%,组氨酸 1.36%。

表 1 各组样品中氨基酸含量测定

No.	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	缬氨酸	蛋氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	酪氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸
1	7.14	2.78	4.05	13.24	21.74	10.11	3.45	0.99	1.7	4.59	0.95	2.66	5.01	1.31	8.33	11.95
2	7.25	2.67	4.11	13.56	21.89	10.56	3.38	1.04	1.73	4.68	1.01	2.68	5.21	1.4	8.41	10.42
3	7.01	2.74	4.11	13.14	21.46	10.32	3.52	0.91	1.66	4.98	0.99	2.49	5.13	1.53	8.27	11.74
4	7.88	2.54	4.07	13.26	21.57	10.76	3.46	0.89	1.79	4.31	0.87	2.71	5.21	1.21	8.29	11.18
5	6.94	2.62	3.95	13.41	21.88	10.89	3.49	0.94	1.75	4.67	1.07	2.67	4.89	1.28	8.21	11.34
6	8.01	2.77	3.98	13.19	21.65	9.88	3.29	1.07	1.79	4.82	1.04	2.59	4.98	1.35	8.27	11.32
7	7.47	2.41	4.07	13.33	21.54	10.05	3.37	0.88	1.62	4.67	0.89	2.61	5.14	1.39	8.25	12.31
8	7.15	2.58	4.12	13.37	22.08	9.94	3.41	0.89	1.59	4.43	0.94	2.49	5.23	1.32	8.31	12.15
9	7.62	2.61	4.15	13.28	21.66	10.23	3.74	1.05	1.72	4.65	0.96	2.69	4.81	1.42	8.29	11.12
10	7.31	2.65	4.02	13.17	22.13	10.17	3.66	1.09	1.77	4.77	0.99	2.55	4.96	1.33	8.37	11.06
11	5.74	2.4	3.66	14.22	24.62	10.98	4.21	1.13	1.42	3.91	0.04	2.28	4.03	0.98	8.29	12.09
12	5.69	2.47	3.54	14.32	24.87	11.03	4.32	1.19	1.4	3.77	0.03	2.34	3.88	0.84	8.33	11.98
13	5.48	2.43	3.79	14.37	24.59	10.83	4.27	1.11	1.58	3.79	0.06	2.31	3.91	0.92	8.17	12.39
14	5.81	2.51	3.58	14.25	24.57	10.94	4.19	1.01	1.44	4.01	0.04	2.22	3.79	0.81	8.29	12.54
15	5.67	2.48	3.66	14.17	24.77	10.79	4.31	1.29	1.49	3.56	0.02	2.19	3.81	0.98	8.36	12.45
16	5.88	2.65	3.57	14.23	24.82	10.69	4.22	1.02	1.32	3.87	0.03	2.26	4.02	1.08	8.21	12.13
17	5.71	2.44	3.69	14.16	24.53	11.11	4.28	1.15	1.41	3.91	0.03	2.29	4.05	1.03	8.23	11.98
18	5.77	2.49	3.71	14.31	24.41	10.91	4.15	1.05	1.37	3.68	0.05	2.18	3.94	0.88	8.31	12.79
19	5.64	2.42	3.63	14.19	24.69	10.97	4.48	1.19	1.51	3.97	0.07	2.36	4.01	0.87	8.17	11.74
20	5.91	2.59	3.64	14.28	24.78	10.88	4.46	1.21	1.5	3.88	0.06	2.37	4.07	0.93	8.19	11.25

注:1~10 为仿生组,11~20 为自然组。

表 2 PCA 模型的基本参数

成分	R ²	累积 R ²	Q ²	限制值	累积 Q ²	显著性
1	0.756	0.756	0.698	0.106	0.698	R1
2	0.073	0.829	-0.21	0.112	0.668	NS

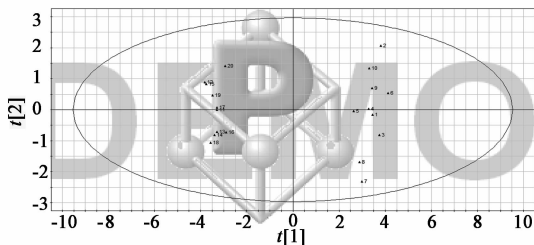


图 1 鹿茸氨基酸口服液 PCA 二维主成分得分

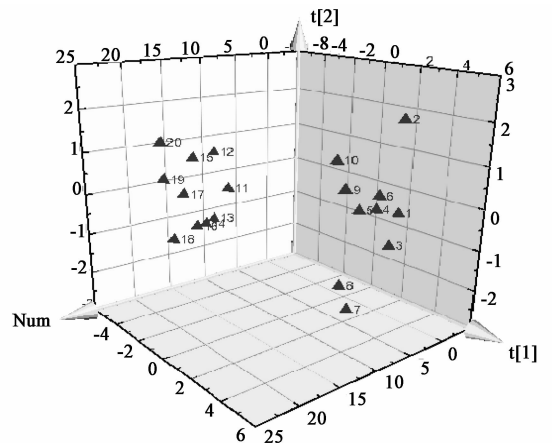


图 2 鹿茸氨基酸口服液 PCA 三维主成分得分

3 讨论

鹿茸具有补肾阳、益精血、强筋骨、调冲任、托疮毒的功效^[3],近年人们越来越重视鹿茸的补益功效。赵磊等^[4]对 5 种鹿茸中营养成分进行研究,发现鹿茸中含有丰富的氨基酸;汪树理等^[5]通过比较带血与排血梅花鹿茸骨片游离氨基酸含量,显示鹿

茸中含量最多的氨基酸为甘氨酸、脯氨酸和谷氨酸。李腾等^[6]研究发现,甘氨酸可改善大鼠烧伤后心肌的有氧代谢,有效降低烧伤后心肌的受损程度。雷敏等^[7]研究发现,精氨酸有助于改善重度创伤手术后患者的免疫状态,提高机体免疫力。肖立宁等^[8]研究发现,氨基酸维生素制剂可有效延长大鼠游泳

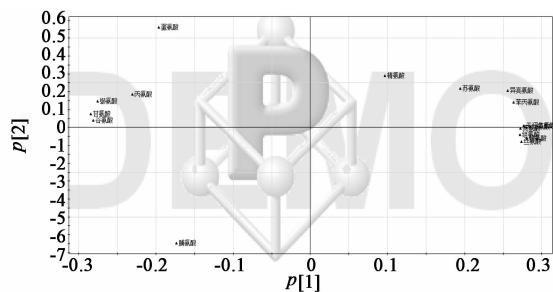


图3 鹿茸氨基酸口服液 PCA 主成分荷载

力竭时间及减少大鼠疲劳运动时多种代谢产物的生成。鹿茸中氨基酸成分可能是其补益功效的重要物质基础。

中药仿生提取理论是以动态模拟药物在人体消化道中消化吸收过程为理论基础^[9],使用与人体消化液(胃、肠液)相近的仿生提取溶剂,在温和条件下进行提取,最大限度地避免了药物中有效成分因提取环境剧烈而被破坏的结果。大量研究证实,中药真正发挥作用的有效成分并不是药物本身所含有的成分,而是经人体消化吸收处理后的相应代谢产物。Odani T等^[10]发现,人参皂苷 Rg_1 口服生物利用率仅 1.9% ~ 20%,但其会在胃液作用下脱去一分子葡萄糖,生成代谢产物人参皂苷 Rh_1 和人参皂苷 F_1 ,且代谢产物血药浓度较高,可能是人参皂苷 Rg_1 发挥药效作用的主要活性成分^[11-12]。因此,可通过仿生提取溶剂对药物进行“修饰”,得到真正有效的活性成分。

自然组使用冰水超声提取法,可保证样品制备过程中成分的稳定性,提高了试验可比性。通过化学计量学方法对两组不同提取物中氨基酸成分进行聚类分析及主成分分析发现,鹿茸经人体消化液处理后,其氨基酸配比较天然氨基酸配比发生了较为显著的变化,其中 7 种氨基酸变化最为显著,这可能是鹿茸在人体内转化最显著的氨基酸组群,可作为仿生鹿茸氨基酸口服液基础配方的核心氨基酸组群,剩余 9 种氨基酸作为基础氨基酸组群,为后期配

方的优化和筛选提供依据。

[参考文献]

- [1] 黄伟,杨世海,鞠贵春.梅花鹿茸的化学成分和生理活性研究进展[J].时珍国医国药,2012,23(5):1256.
- [2] 杨秀伟.基于体内过程的中药有效成分和有效效应物质的发现策略[J].中国中药杂志,2007,32(5):365.
- [3] 武文,李卓明,苏冀彦,等.鹿茸柱前衍生化高效液相指纹图谱研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(9):58.
- [4] 赵磊,李继海,朱大洲,等.5种鹿茸营养成分的主成分分析[J].光谱学与光谱分析,2010,30(9):2571.
- [5] 汪树理,孙继红,王艳梅.带血与排血梅花鹿茸骨片游离氨基酸含量的比较分析[J].氨基酸和生物资源,2009,31(3):62.
- [6] 李腾,彭靖,吕尚军,等.甘氨酸对烧伤大鼠心肌细胞能量代谢的影响[J].重庆医学,2012,41(33):3476.
- [7] 雷敏,王大维,冯东娟,等.不同剂量精氨酸对重度创伤患者术后免疫指标及结局的影响[J].中华临床营养杂志,2012,20(6):379.
- [8] 肖立宁,陈剑伟,高朝辉,等.氨基酸维生素制剂的抗疲劳作用研究[J].解放军医学杂志,2012,37(1):23.
- [9] 陈新,胡朝奇,张洪长,等.仿生化提取人参皂苷类成分的初步研究[J].中国药房,2012,23(19):1752.
- [10] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins II. The absorption, distribution and excretion of ginsenoside Rg_1 in the rat[J]. Chem Pharm Bull, 1983, 31(1):292.
- [11] 冯亮,胡昌江,余凌英.人参皂苷 Rg_1 及其代谢产物的药代动力学研究[J].药学报,2010,45(5):636.
- [12] 苗凤茹,刘光宇,林力.人生提取物及大鼠灌胃给药后入血成分的定性分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,19(2):148.

[责任编辑 仝燕]