

板蓝根饮片的浸润切制工艺优选

梁丽丽¹,王英姿²,李环环¹,孙秀梅^{1*}

(1. 山东中医药大学,济南 250355; 2. 北京中医药大学,北京 100029)

[摘要] 目的:优选板蓝根饮片的浸润切制工艺条件。方法:以(R,S)-告依春、水浸出物、醇浸出物的含量为综合评价指标,选取药材浸润用水量、浸润时间、饮片厚度为考察因素,通过正交设计法优选板蓝根饮片的浸润切制工艺条件。采用质量法测定浸出物含量,HPLC 测定(R,S)-告依春含量。结果:影响板蓝根饮片浸润切制的主要因素为切片厚度,其次为浸润时间和浸润用水量。优选的板蓝根饮片的浸润切制工艺为板蓝根药材加 0.6 倍量水浸润 20 h,切片厚度 3 mm,60 ℃烘干。结论:优选的浸润切制工艺稳定可行,为板蓝根饮片炮制工艺的规范化及质量标准提供实验依据。

[关键词] 板蓝根; 浸润切制; 工艺优选; 综合指标; 正交设计

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)21-0028-03

Optimization of Infiltration and Cutting Technology for Pieces of *Isatis indigotica*

LIANG Li-li¹, WANG Ying-zi², LI Huan-huan¹, SUN Xiu-mei^{1*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize infiltration and cutting technology conditions for pieces of *Isatis indigotica*. **Method:** With the content of water extract, alcohol extract and (R, S) -goitrin as indexes, water consumption, infiltration time and thickness of pieces were selected as factors, infiltration and cutting technology for pieces of *I. indigotica* was optimized by orthogonal test. The content of extract and (R, S) -goitrin were determined by gravimetric method and HPLC. **Result:** Thickness of pieces was major factor for infiltration and cutting technology of pieces of *I. indigotica*, followed by infiltration time and water consumption. Optimum infiltration and cutting technology was: infiltrated 20 h with 0.6 times the amount of pieces of *I. indigotica*, thickness of pieces 3 mm and drying at 60 ℃. **Conclusion:** Optimized infiltration and cutting technology was

[收稿日期] 20120624(007)

[基金项目] 中医药行业科研专项(201007012-2-8)

[第一作者] 梁丽丽, 硕士, 从事中药新药研究与中药炮制原理研究, Tel:13405315121, E-mail:lianglina000123@126.com

[通讯作者] * 孙秀梅, 本科, 教授, 博士生导师, 从事中药新药研究与中药炮制原理研究, Tel: 0531-82628081, E-mail: sunxiumei8@163.com

[参考文献]

[1] 张春容,肖丹. 射干的提取纯化工艺研究[J]. 华西药
学杂志,2006,21(5):447.

[2] 中国药典. 一部[S]. 2010:325.

[3] 魏庆华,王勤. HPLC 测定增液承气口服液 中哈巴昔和
哈巴俄昔含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18
(7):81.

[4] 王锦玉,全燕,王智民. RP-HPLC 法同时测定筋骨草
药材中哈巴昔和乙酰哈巴昔含量[J]. 中国实验方剂
学杂志,2009,15(11):26.

[5] 侯林中,张熙洁. 正交试验优选宽心口服液醇沉工艺
[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):32.

[6] 谢浙裕,秦明珠,房玉玲. 8-乙酰哈巴昔的药理作用
[J]. 国外医药·植物药分册,2005,20(2):56.

[责任编辑 全燕]

stable and feasible, it could provide experimental basis for processing technology standardization and quality standard of pieces of *I. indigotica*.

[Key words] *Isatis indigotica*; infiltration and cutting; technology optimization; comprehensive index; orthogonal design

板蓝根性寒味甘,具有清热解毒、凉血利咽的功效。药理研究表明,其具有抗病毒、抗炎、抗菌和免疫调节等作用^[1-2]。中药饮片是中药最基本的入药形式,同味中药,由于软化切制工艺不同,有效成分的溶出量会有所差异,将直接影响临床用药剂量的准确度及疗效。板蓝根在《中国药典》2010 年版一部中收录的加工炮制方法为“除去杂质,洗净,润透,切厚片,干燥”^[3],而附录中对厚片的规定为 2~4 mm,使得生产中对其切制规格不易掌握^[4]。本试验选取板蓝根药材软化时加水量、润制时间和切片厚度为考察因素,以水浸出物、乙醇浸出物、(R,S)-告依春为综合评判指标,采用正交设计法优选其软化切制工艺,为板蓝根饮片炮制工艺的规范化和其质量标准的制定提供实验依据。

1 材料

MA110 型电子分析天平(上海第二分析仪器厂),101A-3 型电热鼓风干燥箱(上海实验仪器有限公司),1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

板蓝根药材购自黑龙江大庆,经山东中医药大学张兆旺教授鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。(R,S)-告依春对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111753-201103),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品的制备 以水浸出物、50% 乙醇浸出物、(R,S)-告依春为综合评价指标,选取浸润用水量、浸润时间、饮片厚度为考察因素,每个因素设 3 个水平,按试验设计进行试验,切片后 60 ℃ 干燥,制得供试品 1~9。正交试验因素水平见表 1。

表 1 板蓝根饮片的浸润切制工艺优选正交试验因素水平

水平	A	B	C
	浸润用水量/倍	浸润时间/h	饮片厚度/mm
1	0.6	20	2
2	0.8	14	3
3	1.0	8	4

2.2 浸出物的测定

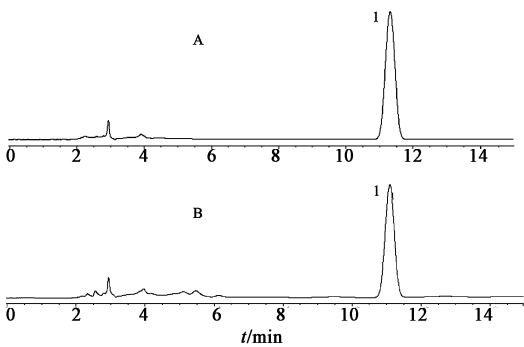
2.2.1 水浸出物的测定 精密称取 2.1 项下供试

品 1~9 各 2.5 g,按《中国药典》2010 年版附录 62 页水溶性浸出物的热浸法测定。

2.2.2 醇浸出物的测定 精密称取 2.1 项下供试品 1~9 各 2.5 g,用 50% 乙醇按《中国药典》2010 年版附录 62 页醇溶性浸出物测定法测定。

2.3 (R,S)-告依春的含量测定

2.3.1 色谱条件 DiamonsiL(TM) 钻石 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.02% 磷酸水(15:85),检测波长 245 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,柱温 30 ℃。见图 1。



A. 对照品;B. 样品;1. (R,S)-告依春

图 1 板蓝根供试液 HPLC

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称定(R,S)-告依春对照品 6.1 mg,加甲醇醇定容至 10 mL,精密吸取 2.5 mL,如甲醇定容至 50 mL,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取 2.1 项下供试品 1~9 各 5 g,常压下加热回流提取 3 次,加水量依次为药量的 10,8,8 倍,提取时间依次为 2,1,0.5 h,合并提取液,滤过、离心(3 500 r·min⁻¹,25 min),上清液蒸干,加硅藻土 1 g,研匀,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声 30 min,放冷,补足减失的质量,滤过,定容至 25 mL,得甲液 1~9(质量浓度 200 g·L⁻¹)。取甲液 1~9 各 1 mL,分别定容至 5 mL,即得供试品溶液 1~9(质量浓度 40 g·L⁻¹)。

2.3.4 标准曲线的绘制 精密吸取 2.3.2 项下对照品溶液,按 2.3.1 项下的色谱条件,各进样 2,5,8,11,14,17 μL,以峰面积为纵坐标,(R,S)-告依春质量为横坐标,得回归方程 Y=7 900.5X-53.4(r=0.999 1),结果表明(R,S)-告依春在 0.061~0.518 5 μg与峰面积呈良好线性关系。

2.3.5 精密度试验 精密吸取 **2.3.2** 项下一对照品溶液 14 μL,按 **2.3.1** 项下色谱条件测定,连续进样 5 次,结果 RSD 2.9%,说明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取 **2.3.3** 项下一供试品溶液 10 μL,按 **2.3.1** 项下色谱条件测定,每隔 2 h 测定 1 次,共测定 5 次,结果 RSD 2.0%,说明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.3.7 回收率试验 取 3 号供试品 0.2 g,精密称定,精密加入 **2.3.2** 项下对照品溶液 (30.5 mg·L⁻¹) 4 mL,按 **2.3.3** 项下方法处理,按 **2.3.1** 项下的色谱条件测定 (*R,S*)-告依春含量,计算回收率,结果见表 2。

表 2 (*R,S*)-告依春加样回收试验

称样量 /g	供试液 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
0.224 3	0.138 7	0.122	0.259 6	99.09		
0.215 2	0.133 1	0.122	0.256 4	101		
0.223 8	0.138 4	0.122	0.257 9	97.95		
0.226 5	0.140 1	0.122	0.261 5	99.53	99.20	1.06
0.212 8	0.131 6	0.122	0.252 3	98.94		
0.217 8	0.134 7	0.122	0.255 1	98.70		

2.3.8 样品测定 按 **2.3.1** 项下色谱条件,将 **2.3.3** 项下供试品溶液 1~9 各进样 10 μL,所得峰面积代入标准曲线,即得。

2.4 正交试验数据分析^[5] 板蓝根饮片的浸润切制工艺正交试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。综合评分按公式 $x'_{ij} = (x_{i,j} - \bar{x}_j)/s_j$ 进行标准化处理,式中 $x'_{i,j}$ 为标准化后的值, $x_{i,j}$ 为样品液 *i* 中成分 *j* 的含量, $\bar{x}_j$ 为各样品液 *i* 中成分 *j* 的平均值, s_j 为

表 3 板蓝根饮片的浸润切制工艺优选正交试验安排

No.	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	(R,S) - 水浸出物醇浸出物 告依春			综合评判 值 <i>Y</i>
					$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	
1	1	1	1	1	298.48	218.13	0.83	7.37
2	1	2	2	2	330.51	292.16	0.63	4.37
3	1	3	3	3	307.73	253.76	0.46	6.21
4	2	1	2	3	335.89	268.96	0.77	9.94
5	2	2	3	1	275.41	179.41	0.55	-8.25
6	2	3	1	2	287.79	208.85	0.62	2.96
7	3	1	3	2	316.75	183.41	0.57	-4.11
8	3	2	1	3	313.07	266.24	0.51	-3.06
9	3	3	2	1	243.28	198.61	0.84	2.90
K_1	1.84	4.40	0.45	0.67				
K_2	-0.42	-2.31	5.74	-0.90				
K_3	-1.42	-2.09	-5.11	0.23				
R	3.27	6.71	11.93	1.58				

注: *Y* = 告依春含量 × 6 + [(水溶性浸出物 + 醇溶性浸出物)/2] × 4。

成分 *j* 的标准偏差,根据各指标在工艺选择中主次,给予不同加权系数,以标准化指标值加权求和后,即得综合评判指标 (*Y*), *Y* 值大者为佳。

由表 3 可知,影响板蓝根饮片切制的主次因素依次为 *C* > *B* > *A*,由方差分析可知, *B*, *C* 因素对试验结果有显著性影响,确定最佳浸润切制工艺为 *A*₁*B*₁*C*₂,即板蓝根药材加 0.6 倍量水浸润 20 h,饮片厚度 3 mm,60 ℃ 烘干。

表 4 综合评判值方差分析

方差来源	<i>SS</i>	<i>f</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>A</i>	16.795	2	32.856	3.376	
<i>B</i>	87.155	2	43.578	21.975	<0.05
<i>C</i>	214.248	2	107.124	54.018	<0.05
<i>D</i> (误差)	3.966	2	1.983		

2.5 验证试验 按优选的板蓝根饮片切制工艺条件制备 3 批样品,测定水浸出物、醇浸出物和 (*R,S*)-告依春的含量,各指标数据按 **2.4** 项下方法依法处理,得综合评判值 10.70, RSD 1.51%,表明优选的工艺条件稳定可行。

3 讨论

基于中药多成分、多靶点的作用特点,本试验以水浸出物、醇浸出物、(*R,S*)-告依春的含量为综合评判指标,并对 3 个指标的数据进行标准化处理,以消除各指标之间的单位和量纲的不同及各指标变量范围相差悬殊而造成的影响。针对各个指标在工艺选择中的主次,赋予不同的加权系数,求得综合评判值,较好体现了中药药效物质提取中“有成分论,不唯成分论,发挥活性混合物综合作用”的理论^[6]。

[参考文献]

[1] 徐丽华,黄芳,陈婷,等. 板蓝根中的抗病毒活性成分[J]. 中国天然药物,2005,3(6):359.

[2] 黄芳,熊雅婷,徐丽华,等. 板蓝根不同提取物中抗病毒成分表告依春在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国药科大学学报,2006,37(6):519.

[3] 中国药典. 一部[S]. 2010:191.

[4] 张强,康琛,李曼玲. 板蓝根饮片炮制沿革的研究[J]. 中国实用医药,2008,3(30):203.

[5] 滕海英,祝国强,黄平. 正交试验设计实例分析[J]. 药学服务与研究,2008,8(1):75.

[6] 张兆旺. 中药药剂学专论[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:68.

[责任编辑 仝燕]