

丹夏乳癖片的提取工艺优选

张海鸣, 刘子沐, 方睿, 王永炎, 杜树山*

(北京师范大学中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京 100875)

[摘要] 目的: 优选丹夏乳癖片的提取工艺。方法: 醇提部分以丹参酮 II_A 为评价指标, 选择提取时间进行单因素考察。醇提后剩余药渣与其余药材合并进行水提, 以丹参素为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交试验考察提取时间、溶媒用量、提取次数的影响, 确定丹夏乳癖片的提取工艺。结果: 最佳提取工艺为用 95% 乙醇 10 倍量提取 1 次, 2 h; 水提部分用 10 倍量水提取 3 次, 每次 2 h。结论: 优选出的提取工艺简单、可行, 适应药厂生产需要, 可作为该制剂合理开发的依据。

[关键词] 丹夏乳癖片; 提取工艺; 单因素试验; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0009-03

Optimization of Extraction Process for Danxia Rupī Tablet

ZHANG Hai-ming, LIU Zi-mu, FANG Rui, WANG Yong-yan, DU Shu-shan*

(Protection and Utilization of Traditional Chinese Medicine of Beijing Area Major Laboratory,
Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize optimum extraction technology of Danxia Rupī tablet. **Method:** Tanshinone II_A was used as index for alcohol extraction part, extraction time was selected for single factor test. Residue after ethanol extracting and other herbs were extracted by water together, L₉(3⁴) orthogonal experiment was used to determine extraction technology of Danxia Rupī tablet with danshensu as index, extraction time, the amount of solvent and extraction times were investigated as main factors affecting water boiling. **Result:** Optimum extraction process was: for alcohol extraction part, extracted 1 time with 10 times the amount of 95% ethanol for 2 h. Water extraction part extracted 3 times with 10 times the amount of water for 2 hours each time. **Conclusion:** This optimum technology was simple, feasible and adapt to industrial production, which could provide references for further investigation of Danxia Rupī tablet.

[Key words] Danxia Rupī tablet; extraction process; single factor test; orthogonal test

[收稿日期] 20111020(010)

[基金项目] 北京教育委员会共建项目(SYS100270430);北京市新医药学科群重点支持项目(xk100270569)

[第一作者] 张海鸣, 博士研究生, 从事中药物质基础研究, Tel:010-62208032, E-mail: zhanghaiming@mail.bnu.edu.cn

[通讯作者] * 杜树山, 博士, 副教授, 从事中药及其民族药物物质基础研究, Tel:010-62208032, E-mail: dushushan@bnu.edu.cn

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 282.
- [2] 张红医, 赵淑军, 成谦, 等. 中药黄芩提取方法的优化[J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2006, 26(4): 390.
- [3] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 862.
- [4] 中国药材公司. 中国中药资源[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 232.
- [5] 盛柳青, 罗国海. 不同加工方法的太子参多糖含量比较研究[J]. 中药材, 2009, 32(1): 33.
- [6] 罗云, 金城. 不同干燥工艺对板蓝根水提物中有效成分的影响[J]. 中草药, 2011, 42(8): 1532.
- [7] 张奇, 叶正良. 不同加工方法和成熟阶段对五味子重要化学成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 13(7): 1722.

[责任编辑 全燕]

丹夏乳癖片为北京中医药大学附属东直门医院秦英副主任医师多年临床经验方,由丹参、夏枯草、香附、赤芍、地龙、红花、桃仁等药味组成,具有活血化瘀、通络止痛的功效,临床上适用于乳腺、腋下及肩背部胀痛、隐痛、钝痛、刺痛等乳腺增生症。本试验根据处方中药材主要有效成分的性质、功能主治、临床用药经验、预试验结果、工厂生产实际和参考有关文献^[1-4],以处方中君药丹参中的有效成分为指标,采用单因素试验对丹参、夏枯草、香附等药材进行乙醇提取工艺的考察,以丹参酮 II_A 为评价指标。同时对醇提后药渣及剩余药材进行水提取,采用正交试验设计,以丹参中丹参素的含量为指标,优选提取工艺研究。

1 仪器与试剂

1525 型高效液相色谱仪(美国 Waters),2487 型紫外可见光检测器(美国 Waters),Toledo AG135 型 1/10 万电子分析天平(瑞士 Mettler 公司),98-1-B 型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司),101A-3E 型电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂有限公司)。

丹参酮 II_A 对照品(中国食品药品检定研究院,批号 0766-9908),丹参素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 11562-200403)。所用药材购于同仁堂药店,经北京师范大学资源生态与中药资源研究所杜树山副教授鉴定^[5]丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎,夏枯草为唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 的干燥果穗,香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎,赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥体,红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子。乙腈为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 醇提工艺

2.1.1 单因素试验 经过预试验,按处方比例称取药材饮片 200 g,确定用 10 倍量 95% 乙醇进行提取,以丹参酮 II_A 为指标,考察提取时间(1,2,3 h),结果丹参酮 II_A 提出量分别为 159.3,171.8,200.3 mg,即随着提取时间的增加,丹参酮 II_A 的含量增加。结合实际生产和成本等考虑,选择最佳提取工艺为 10 倍量 95% 乙醇提取 2 h。在此条件下已将

丹参酮 II_A 等脂溶性成分大部分提出。

2.1.2 丹参酮 II_A 的含量测定 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(75:25),检测波长 270 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,理论塔板数按丹参酮 II_A 峰计算应不低于 2 000。

精密称取在五氧化二磷干燥器中干燥至恒重的丹参酮 II_A 对照品 10.30 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,滤过,即得对照品溶液。

取样品溶液,加适量乙醇稀释,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

分别精密吸取对照品溶液与供试品各 10 μL,注入液相色谱仪,测定。

2.2 水煎煮工艺

2.2.1 提取液的制备 称取丹参、夏枯草、香附等药材乙醇提取后药渣与赤芍、地龙、红花、桃仁等药材共 9 份,每份 60 g 生药量,进行正交试验,药液定容即得。

2.2.2 丹参素的含量测定^[5] Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液(10:90),检测波长 280 nm,柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,理论塔板数按丹参素峰计算应不低于 2 000。

精密称取在五氧化二磷干燥器中干燥至恒重的丹参素钠对照品 13.40 mg,置 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,滤过,即得对照品溶液。

取水提取药液,加水适量稀释,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

分别精密吸取对照品溶液与提取液供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.2.3 正交试验设计 经过预试验,将剩余药渣与赤芍、地龙、桃仁等 3 味药材进行水提取工艺考察。多方考察影响水煎煮的因素,选择加水量、提取时间、提取次数为影响水煎煮的主因素,以丹参素含量为评价指标,用 L₉(3⁴) 正交表安排试验,因素水平表(表 1),正交试验设计及结果见表 2,3。

表 1 丹夏乳癖片水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	C 提取数/次
1	6	1	1
2	8	2	2
3	10	3	3

对表 2 数据进行直观分析,以丹参素钠含量为评价指标,根据丹参素钠含量可知水煎因素影响的

表2 丹夏乳癖片水提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	丹参素钠 总量/mg
1	1	1	1	64.14
2	1	2	2	121.92
3	1	3	3	202.74
4	2	1	2	87.27
5	2	2	3	243.12
6	2	3	1	55.20
7	3	1	3	144.99
8	3	2	1	122.13
9	3	3	2	133.62
K_1	0.43	0.33	0.27	
K_2	0.43	0.54	0.38	
K_3	0.45	0.44	0.66	
R	0.02	0.21	0.39	

表3 丹参素钠含量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.00	2.00	0.00	0.02	>0.05
B	0.07	2.00	0.03	2.37	>0.05
C	0.24	2.00	0.12	8.41	>0.05
D(误差)	0.03	2.00	0.01		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

主次顺序为 $C > B > A$, 即提取次数 > 提取时间 > 加水量。由方差分析可知, 提取次数、提取时间和加水量 3 个考察因素均没有显著性差异。综合直观分析与方差分析的结果确定最佳组合水平为 $A_3B_2C_3$, 即加 10 倍量水煎煮 3 次, 每次 2 h。

2.2.4 验证试验 称取丹参、夏枯草、香附、赤芍、地龙、红花、桃仁等药材共 60 g, 依据上述条件加水煎煮, 验证 3 次, 结果丹参素钠总量分别为 196.32, 223.50, 209.64 mg, 与正交试验结果相近, 说明本提取工艺稳定可行。

3 讨论

方中丹参、夏枯草、香附、红花等药材含有挥发油、丹参酮 II_A 等二萜、三萜类脂溶性成分, 复方丹参片^[6] 等含有丹参药材的成方制剂, 基本采用乙醇提取; 该类药材有效成分中有水溶性成分, 该方在临床上常以汤剂入药。因此将醇提后药渣与赤芍、地龙、桃仁等药材进行水煎煮的方法提取, 从而保证制剂的疗效。

本制剂为临床用的经验方, 根据现代乳腺增生症病人的用药特点^[7], 选择片剂。片剂服后吸收快而且操作简便、制剂稳定、成品体积减少、服用方便。

丹参中丹参酮 II_A 有抗肿瘤作用^[8], 丹参素有抑制血栓形成、神经保护、防治肝纤维化及抗肿瘤、抗炎和增强免疫等作用^[9], 这与本片剂的功能主治一致。

[参考文献]

- [1] 谢凯, 赵磊磊, 姜红宇. 近年来丹参提取工艺的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(10): 67.
- [2] 刘常青, 何百寅, 冯峰, 等. 正交试验优选水提后丹参药渣中丹参酮 II_A 的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 32.
- [3] 艾相平, 张百峰, 党学德. 复方丹参片提取工艺的实验研究[J]. 中国药事, 2009, 23(7): 694.
- [4] 杨树声, 宋平顺, 马真金, 等. 鲜切甘肃丹参饮片工艺的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 45.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2010: 71.
- [6] 范彦俊, 石俊英. 近五年复方丹参片的研究进展[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(4): 225.
- [7] 高建军, 麻小娟. 乳腺增生症的辨治思路及治疗方案探讨[J]. 陕西中医, 2009, 30(10): 1356.
- [8] 杨雪鸥, 王小云, 开国银, 等. 丹参酮 II_A 抗肿瘤作用及其新剂型的研究进展[J]. 中成药, 2011, 33(8): 1389.
- [9] 袁恒杰. 丹参素药理作用研究新进展[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(5): 604.

[责任编辑 仝燕]