

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.16.002

决明子水煎提取工艺优化及其颗粒剂中指标成分量值转化研究*

薛佩芸¹, 陈萍^{1,2}, 郭冬^{2△}

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003)

摘要:目的 优化决明子配方颗粒的制备工艺及进行指标成分量值转化研究。方法 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 以出膏率、橙黄决明素及大黄酚含量为综合评价指标, 以浸泡时间、加水量、提取时间及提取次数为考察因素, 优选水煎提取工艺。饮片经最佳工艺提取后, 经减压浓缩、喷雾干燥、干法制粒等制成配方颗粒。通过指标成分的含量测定比较饮片-提取液-干粉-配方颗粒间指标成分量值转化的相关性。结果 最佳水煎提取工艺为浸泡 0.5 h, 加 10 倍量水, 煎 3 次, 每次 1.5 h; 橙黄决明素及大黄酚总转移率分别为 76.59%~79.31%, 12.85%~15.97%。结论 决明子提取工艺稳定, 重复性好。提取液、干粉及配方颗粒中橙黄决明素和大黄酚的量值转化过程一致性较好, 可为大规模生产提供依据。

关键词: 决明子; 配方颗粒; 正交试验; 工艺优化; 含量测定; 量值传递

中图分类号: R932; TQ460.6; R284

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)16-0005-04

Optimization of Water Extraction Process of *Cassiae Semen* and the Quantity Transfer of Index Components in *Cassiae Semen* Formula Granules

XUE Peiyun¹, CHEN Ping^{1,2}, GUO Dong²

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, China 712046; 2. Shaanxi Province Chinese Medicine Research Institute, Xi'an, Shaanxi, China 710003)

Abstract: **Objective** To optimize the preparation process of *Cassiae Semen* Formula Granules and to study its quantity transfer of index components. **Methods** Taking the paste rate, the contents of aurantio-obtusin and chrysophanol as comprehensive evaluation indexes and taking soaking time, water addition, extraction time and extraction times as factors, $L_9(3^4)$ orthogonal test was used to select the optimum water extraction process. After extracting the decoction pieces by the optimum process, the formula granules were prepared by vacuum concentration, spray drying and dry granulation. The correlation between the amount transfer of index components among the decoction piece-extract solution-dry powder-formula granules was compared by the content determination of index components. **Results** The optimum extraction process was as follows: soaking for 0.5 h, adding 10 times the amount of water, decocting for 3 times, 1.5 h each time. The total transfer rate of aurantio-obtusin was in the range of 76.59% - 79.31% and that of chrysophanol was in the range of 12.85% - 15.97%. **Conclusion** The extraction process of *Cassiae Semen* is stable and reproducible. The content of aurantio-obtusin and chrysophanol in extract, dry powder and formula granules showed a quantitative transfer relationship, which has a good consistency and can provide a basis for large-scale production.

Key words: *Cassiae Semen*; formula granules; orthogonal test; process optimization; content determination; quantity transfer

决明子为豆科决明属植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子,《神农本草经》列为上品,称之“能治诸眼疾,久眼益精光,轻身”。决明子味甘、苦、咸,性微寒,归肝、大肠经,有清热明目、润肠通便功效^[1],主要用于治疗目赤肿痛、畏光多泪、头痛眩晕、视暗不明、大便秘结等症,也是防治肥胖症、高脂血症、便秘等的药食两用佳品^[2-5]。由于市场上其配方颗粒存在质量标准不明确、质量不均一、剂量不统一等问题^[6],现通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优化决明子水煎提取工艺条件,以出膏率、橙黄决明素及大黄酚含量为评价指标,建立其含量测定方法,开展配方颗粒制备工艺研究,比较饮片-提取液-干粉-配方颗粒间指标成分量值转化的相关性,

探索配方颗粒质量一致性。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); BT25S 型电子分析天平、BS210S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司); ZLG 型中药浸膏专用离心喷雾干燥机(浙江钱江伟岸干燥设备有限公司); GZL100-25L 型干法制粒机(石家庄科源机械设备有限公司)。

1.2 试剂

橙黄决明素对照品(批号为 111900-201605, 含量

*基金项目: 陕西省创新能力支撑计划项目[2018PT-29]。

第一作者: 薛佩芸, 在读硕士研究生, 研究方向为中药质量评价与新药开发, (电子信箱) xpy13165783669@126.com。

△通信作者: 郭冬, 女, 大学本科, 研究员, 研究方向为中药药剂学, (电子信箱) 787422146@qq.com。

为 98.3%)、大黄酚对照品(批号为 110796-201621,纯度为 99.2%),均购于中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司);磷酸(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);水为纯净水,其他试剂均为分析纯。决明子饮片 3 批(批号分别为 171002, 171201, 180401)均购于陕西兴盛德中药饮片有限公司,经陕西省中医药研究院杨智峰教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Welchrom C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B),梯度洗脱,0~15 min(38% A), 15~30 min(38% A→90% A), 30~40 min(90% A), 40~45 min(90% A→38% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:284 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。

2.1.2 溶液制备

混合对照品溶液:取橙黄决明素对照品、大黄酚对

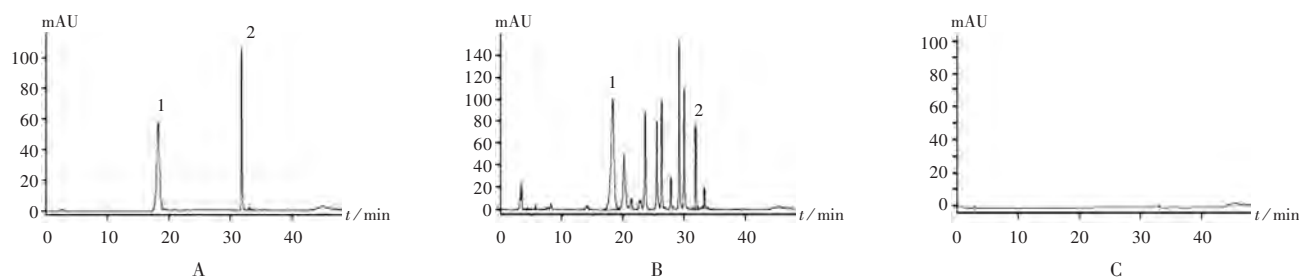
照品各适量,精密称定,加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1, V:V)溶液,制成每 1 mL 含橙黄决明素 131.65 μg、大黄酚 246.80 μg 的混合对照品溶液。

供试品溶液:称取决明子饮片(批号为 171002)9 份(1~9 号),每份 50.0 g,按正交试验方案进行提取,定容至 1 000 mL;精密吸取 1~9 号水煎液各 20 mL,加盐酸 1.0 mL,水浴加热水解 1 h,立即冷却,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 30 mL,合并三氯甲烷液,回收溶剂至干,残渣用无水乙醇-乙酸乙酯(2:1, V/V)混合溶液溶解,转移至 25 mL 容量瓶中并定容,摇匀,滤过,即得。

阴性对照溶液:精密吸取水 20 mL,按供试品溶液制备项下方法“加盐酸 1.0 mL”起同法制备。

2.1.3 方法学考察

系统适用性试验:分别精密吸取 2.1.2 项下 3 种溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果橙黄决明素和大黄酚峰的保留时间分别为 18.436, 31.877 min,分离度均大于 1.5,理论板数均大于 7 800,拖尾因子为 0.95~1.05。详见图 1。



1. 橙黄决明素 2. 大黄酚
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液
图 1 高效液相色谱图

线性关系考察:分别精密量取 2.1.2 项下对照品 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 置 10 mL 容量瓶中,加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1, V/V)溶液定容,精密吸取 10 μL,按 2.1.1 项下色谱条件测定,重复 2 次。以各成分的峰面积平均值(Y)为纵坐标、质量浓度(X, μg/mL)为横坐标进行线性回归,得橙黄决明素回归方程为 $Y_1 = 79.62839X_1 - 36.25151$, $R^2 = 0.99996$ ($n = 6$),质量浓度线性范围为 1.3165~32.9125 μg/mL;大黄酚回归方程为 $Y^2 = 25.75886X^2 - 20.04353$, $R^2 = 0.99996$ ($n = 6$),质量浓度线性范围为 2.4680~61.7000 μg/mL。

精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 10 μL,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次。结果橙黄决明素及大黄酚峰面积的 RSD 分别为 0.23% 及 0.20% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:分别精密吸取同一供试品(批号为 171002)溶液 10 μL,室温下按 2.1.1 项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 8, 12, 20, 24 h 时进样。结果橙黄决明素及

大黄酚峰面积的 RSD 分别为 0.79% 及 0.96% ($n = 7$),表明供试品溶液室温下放置 24 h 内稳定。

重复性试验:取样品(批号为 171002)水煎液 6 份,按供试品溶液制备方法制备待测溶液,进样测定。结果橙黄决明素及大黄酚峰面积的 RSD 分别为 1.48% 及 2.71% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的同一样品水煎液(含量:橙黄决明素 0.073%, 大黄酚 0.028%)6 份,每份 5 mL,分别精密加入适量橙黄决明素对照品及大黄酚对照品,以 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果见表 1。

2.2 出膏率测定

精密吸取 1~9 号水煎液 100 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于烘箱 105℃干燥至恒重,冷却后迅速精密称定,计算出膏率:出膏率 $y(\%) = (m_1 / 100 \times V) / m_2 \times 100\%$ (m_1 为干浸膏质量, V 为样品溶液体积, m_2 为饮片质量)。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.182	0.070	0.184	0.080	0.364	0.153	98.91	103.75				
0.182	0.070	0.184	0.080	0.362	0.154	97.83	105.00				
0.182	0.070	0.184	0.080	0.363	0.153	98.37	103.75	99.28	102.29	1.13	2.24
0.182	0.070	0.184	0.080	0.367	0.151	100.54	101.25				
0.182	0.070	0.184	0.080	0.367	0.149	100.54	98.75				
0.182	0.070	0.184	0.080	0.365	0.151	99.46	101.25				

注:A为橙黄决明素,B为大黄酚。

2.3 提取工艺优化

2.3.1 单因素试验

吸水率:称取决明子饮片(批号为171002)2份,每份50.0g,置烧杯中,加水至刚好没过饮片(约200mL),计时,随时观察,3h内每间隔20min计量1次,计算吸水率,结果为80.0%,故在煎煮前应浸泡1h左右,故选择0,30,60min作为正交试验浸泡时间。继续浸泡过夜,得吸水率为200.0%,则最少应加水5倍,故选择加水量6,8,10倍作为正交试验加水量因素的3个水平。

提取时间:称取决明子饮片(批号为171002)6份,每份50.0g置圆底烧瓶中,加入10倍量纯化水,分别加热回流30,60,90,120,150,180min,滤过,合并滤液,以水定容至500mL。按2.1.2项下供试品溶液制备项下方法“精密吸取1~9号水煎液各20mL”起,制备供试品溶液,进样测定;按2.2项下方法计算出膏率,结果90min后最高,橙黄决明素及大黄酚含量均趋于稳定,故选择回流60,90,120min作为正交试验提取时间因素的3个水平。

2.3.2 正交试验

因素水平:以预试验结果为基础,并以出膏率及橙黄决明素和大黄酚含量为考察指标,选择浸泡时间(因素A)、加水量(因素B)、提取时间(因素C)及提取次数(因素D)作为影响因素进行工艺优化^[7-9],因素水平设计见表2。

表2 因素水平表

水平	因素A(h)	因素B(倍)	因素C(h)	因素D(次)
1	0	6	1.0	1
2	0.5	8	1.5	2
3	1.0	10	2.0	3

注:第3次煎煮1h。

正交设计及结果:采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表优化提取工艺,试验安排及结果见表3。

方差分析:出膏率影响因素影响强度为 $D>B>C>A$,其中因素D具有显著性,最佳条件为 $A_3B_3C_2D_3$;由于A无显著性,综合考虑选择 A_2 ,因此确定最优组合为

表3 正交试验安排及结果

试验号	因素				评价指标(%)			
	A	B	C	D	浸	橙	大	综
1	1	1	1	1	8.38	0.047	0.027	3.374
2	1	2	2	2	15.12	0.070	0.033	6.079
3	1	3	3	3	18.38	0.073	0.028	7.382
4	2	1	2	3	16.81	0.066	0.029	6.753
5	2	2	3	1	8.77	0.042	0.022	3.527
6	2	3	1	2	15.58	0.061	0.031	6.260
7	3	1	3	2	13.45	0.047	0.021	5.400
8	3	2	1	3	15.12	0.058	0.021	6.072
9	3	3	2	1	10.66	0.048	0.021	4.285
K_1	18.26	17.67	17.39	11.87				
K_2	18.36	18.37	19.14	19.83				
K_3	18.87	19.45	18.95	23.80				
S_j	0.20	0.59	0.58	3.98				

注:浸为浸膏得率,橙为橙黄决明素,大为大黄酚,综为综合评分。
综合评分=出膏率 $\times$ 40%+橙黄决明素 $\times$ 30%+大黄酚 $\times$ 30%。

$A_2B_3C_2D_3$,即浸泡0.5h,加10倍量水,煎3次,每次1.5h。方差分析结果见表4。

表4 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	P
A	0.072 354 67	2	0.036 177 33	*	
B	0.531 986 00	2	0.265 993 00	7.35	>0.05
C	0.614 384 67	2	0.307 192 33	8.49	>0.05
D	24.613 220 67	2	12.306 610 33	340.17	<0.05

验证试验:称取决明子饮片3份,每份50.0g,依据最佳工艺条件 $A_2B_3C_2D_3$ 进行验证。结果见表5,可见,该提取工艺稳定可靠,重复性好。

2.4 配方颗粒制备及中试数据^[10-13]

取3批决明子饮片各10.0kg,加入10倍量水浸泡0.5h,煎煮1.5h,滤过,药渣再加入10倍量水,煎煮1.5h,滤过,合并滤液,于60℃减压浓缩至相对密度为1.04~1.31g/mL后进行喷雾干燥,得喷干粉。以喷干粉-糊精(1:1, m/m)混合,干法制粒,过14目筛整粒,再过65目筛筛除未成型的粉末进行二次制粒。最终

得粒度在 10~80 目的 3 批决明子配方颗粒。中试数据见表 6。

表 5 最佳工艺验证试验结果(%)

试验号	干膏得率	橙黄决明素含量	大黄酚含量
1	19.59	0.074	0.027
2	20.06	0.072	0.028
3	20.54	0.071	0.028
$\bar{x}$	20.06	0.072	0.028
RSD	1.93	1.72	1.70

表 6 配方颗粒中试数据结果(kg)

批号	投料	流浸膏	干粉	糊精	配方颗粒
171002	10.0	3.2	1.2	1.0	1.9
171201	10.0	3.0	1.3	1.0	2.2
180401	10.0	2.6	1.4	1.0	2.0

2.5 指标成分量值传递

2.5.1 橙黄决明素及大黄酚量值转化

称取饮片 0.5 g,精密称定,按 2015 年版《中国药典(一部)》决明子饮片含量测定项下供试品溶液的制备方法制备饮片供试品溶液;精密量取提取液 20 mL,按 2.1.2 项下供试品溶液的制备项下方法“加盐酸 1.0 mL”起同法制备提取液供试品溶液;称取干粉配方颗粒各 0.2 g,精密称定,加入 10 mL 热水,超声处理 30 min,按 2.1.2 项下供试品溶液制备项下方法“加盐酸 1.0 mL”起分别同法制备干粉供试品溶液和配方颗粒供试品溶液。取各供试品溶液适量,按 2.1 项下方法测定橙黄决明素及大黄酚含量及转移率。结果见表 7。

表 7 饮片→中间体→配方颗粒指标成分量值转化结果(%)

剂型	项目	171002		171201		180401	
		橙黄决明素	大黄酚	橙黄决明素	大黄酚	橙黄决明素	大黄酚
饮片	含量	0.090	0.190	0.087	0.179	0.094	0.144
提取液	含量	0.072	0.028	0.071	0.028	0.074	0.027
	转移率	80.00	14.73	81.61	15.64	78.72	18.75
干粉	含量	0.070	0.025	0.070	0.024	0.072	0.024
	转移率	97.22	89.29	98.59	85.71	97.30	88.89
配方颗粒	含量	0.070	0.025	0.069	0.023	0.072	0.023
	转移率	100.00	100.00	98.57	95.83	100.00	95.83
	总转移率	77.78	13.16	79.31	12.85	76.59	15.97

注:量值转化过程转移率,饮片→提取液→干粉→配方颗粒;总转移率,饮片→配方颗粒。

2.5.2 量值转化分析

假设成型工艺研究中各环节中无损失,比较决明子饮片-提取液-干粉-配方颗粒间指标成分量值转化的相关性。由表 7 可知,由饮片到配方颗粒成品,橙黄决明素总转移率约为 78%,在制备工艺全过程中橙黄决明素含量较稳定,转移率高,一致性好;大黄酚总转移率在 13%

左右,主要由于饮片→提取液大黄酚转移率较低(约 15%)。综上所述,决明子饮片-提取液-干粉-配方颗粒间指标成分的量值转化过程较好地保留了原饮片成分。

3 讨论

在选择指标成分时,参考 2015 年版《中国药典(一部)》,以橙黄决明素及大黄酚作为评价指标,饮片→提取液→干粉→配方颗粒间橙黄决明素及大黄酚含量考察,水煎工艺大黄酚损失大,确定以橙黄决明素、出膏率作为配方颗粒质量控制指标。

本试验中考察了淀粉、糊精 2 种辅料,结果糊精比淀粉流动性、成型性更好,不易吸湿,故选择糊精作为辅料。通过干粉与糊精比例多次配伍考察,最终确定干粉比糊精(1:1, m/m)制粒,效果最佳。

量值转化将传统的中药汤剂制备成中药配方颗粒后,由于剂型发生明显改变,可能影响指标成分的量值转化。本研究中通过考察饮片-提取液-干粉-配方颗粒中指标成分的量值转化,追溯各工艺过程中指标成分的含量及转移率,评价了配方颗粒制备工艺的均一性,也为配方颗粒替代传统汤剂研究提供了借鉴。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:145.
- [2] 高艳青,刘俊. 决明子的药理作用及其研究进展[J]. 中国药业,2008,17(8):63-64.
- [3] 于凡,孙乐,许利嘉,等. 决明子现代应用的研究进展[J]. 中国现代中药,2018,20(5):626-630.
- [4] 许耀宗. 决明子的现代药理药性与临床新用研究[J]. 北方药学,2016,13(4):136-137.
- [5] 刘飞,郭换,梁乙川,等. 基于降血脂功效的决明子安全性评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(17):183-189.
- [6] 沈霞飞,朱雪梅,陈凌云. 不同厂家决明子配方颗粒中大黄酚含量比较[J]. 医药导报,2008,27(5):600-601.
- [7] 冯硕. 决明子中橙黄决明素的提取、分离及纯化工艺探讨[J]. 当代化工研究,2018(11):170-171.
- [8] 王莹,王青,张伟东,等. 多指标正交试验法优选决明子蒽醌类成分的提取方法[J]. 中成药,2012,34(9):1684-1688.
- [9] 张立明,权洪峰,郑传莉,等. 正交设计优化决明子中蒽醌提取工艺研究[J]. 宁夏医科大学学报,2011,33(1):93-95.
- [10] 李梦杰. 山蜡梅、决明子、荷叶三种中药配方颗粒的制备工艺及质量标准研究[D]. 南昌:江西科技师范大学,2016.
- [11] 刘伟民. 决明子配方颗粒制备及提取过程动力学研究[D]. 广州:广州中医药大学,2010.
- [12] 陈艳芬,刘伟民,江滨,等. 不同工艺决明子配方颗粒与传统饮片的药效学比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(13):161-164.
- [13] 刘伟民,江滨,曾元儿,等. 不同干燥方法对决明子配方颗粒蒽醌含量的影响[J]. 时珍国医国药,2011,22(1):106-107.

(收稿日期:2019-03-27)