

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.01.006

板山岗颗粒药材提取工艺优化研究*

陈路¹, 吴无畏¹, 唐炳兰¹, 刘钰¹, 董思喆², 蓝晓步^{2△}

(1. 广西壮族自治区药用植物园, 广西南宁 530023; 2. 广西壮族自治区南宁市第一人民医院, 广西南宁 530022)

摘要:目的 优化板山岗颗粒的药材提取工艺。方法 以干浸膏和代表性成分(*R, S*)-告依春的收率为评价指标, 开展正交试验, 选出最佳提取工艺。结果 最佳提取工艺为加水提取2次, 首次加8倍量提取2h、第2次加6倍量提取2h, 提取液浓缩至相对密度为1.25~1.30, 加入2倍体积的95%乙醇, 醇沉48h后过滤, 滤液浓缩成相对密度为1.30~1.35的浸膏。结论 该提取工艺方法简便, 有效成分收率高, 可用于板山岗颗粒的规模化生产。

关键词:板山岗颗粒; 提取工艺; 正交试验; (*R, S*)-告依春

中图分类号: R932; TQ460.6

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)01-0020-03

Optimization of the Herb Extraction Technology of Banshangang Granules

CHEN Lu¹, WU Wuwei¹, TANG Binglan¹, LIU Yu¹, DONG Sizhe², LAN Xiaobu²

(1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning, Guangxi, China 530023; 2. The First People's Hospital of Nanning, Nanning, Guangxi, China 530022)

Abstract: **Objective** To optimize the herb extraction process of Banshangang Granules. **Methods** The yield of dry extract and representative component (*R, S*)-epigotritin were taken as evaluation indexes, orthogonal test was conducted to optimize the best extraction process. **Results** The best extraction process was the herbs were extracted by water for two times, the first time 8 times extracted 2 h, and the second 6 times 2 h; the extract was concentrated to the relative density of 1.25-1.30, added twice the volume of 95% ethanol, mixed evenly and settled down for 48 h, then filtrated the solution and concentrated it to the relative density of 1.30-1.35. **Conclusion** The extraction method is simple and the content of effective components is high, which can be used in the large-scale production of Banshangang Granules.

Key words: Banshangang Granules; extraction process; orthogonal test; (*R, S*)-epigotritin

板山岗颗粒是由板蓝根 *Isatis indigotica* Fort.、山芝麻 *Helicteres angustifolia* L.、岗梅 *Ilex asprella* (Hook. et Arn.) Champ. ex Benth 3味中药组方, 应用中医药理论对大量临床处方进行筛选, 结合广西特有的各类中药民族药材, 经反复实践而研发创制的医院中药复方制剂, 具有清热解毒、凉血功效, 可用于治疗风热感冒、咽炎、扁桃体炎等。由于研制初期的条件限制, 原制剂未完善提取工艺的控制指标。为了保证制剂质量的稳定性, 提升制剂的安全性、可控性水平, 本研究中将原方诸药按现代中药药剂的制剂需求进行了提取工艺的优化^[1]。以药材干浸膏和(*R, S*)-告依春的收率为评价指标, 通过提取工艺的正交试验, 优化板山岗颗粒的最佳生产工艺, 为规模化生产奠定基础。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

VARIAN 210 型高效液相色谱仪(美国瓦里安公司); CP114 型电子天平(奥豪斯仪器有限公司); SB-5200D 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); N-1100 型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司)。

1.2 试药

(*R, S*)-告依春对照品(批号为11753-201505, 中国食品药品检定研究院); 板蓝根(批号为180501), 山芝麻(批号为180801), 岗梅(批号为180601), 均购于南宁生源中药饮片有限责任公司; 乙醇为分析纯, 甲醇为色谱纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计

原制剂工艺采用水提取乙醇沉淀法, 仅对水提取时间(每次提取2h)、次数(提取2次)和浓缩程度(提取液浓缩至相对密度为1.25~1.30, 醇沉滤液浓缩至相对密度为1.30~1.35)有规定。故以水作为提取溶剂, 干浸膏收率、(*R, S*)-告依春收率为评价指标, 按原提取次数、提取时间, 以水提取用量(A)、提取浓缩液醇沉时乙醇浓度(B)、醇沉时间(C)为3个主要因素, 开展3个水平的正交试验^[2]。采用SPSS 23.0 统计学软件设计正交试验因素水平表, 见表1。

*基金项目: 广西壮族自治区南宁市科学研究与技术开发计划项目[20173158-6]。

第一作者: 陈路, 壮族, 副主任药师, 研究方向为中药民族药相关产品开发, (电子信箱)150388451@qq.com。

△通信作者: 蓝晓步, 壮族, 副主任药师, 研究方向为中药民族药相关产品开发, (电子信箱)112773956@qq.com。

表1 正交试验水平因素表

水平	因素 A(倍)	因素 B(%)	因素 C(h)
1	6 + 4	75	48
2	8 + 6	85	60
3	10 + 8	95	72

2.2 制备工艺正交试验

按制剂处方比例各称取板蓝根 50 g, 山芝麻 30 g, 岗梅 40 g, 共 9 份。按正交试验表进行水提醇沉工艺, 药材加水提取 2 次, 每次提取 2 h, 提取液合并浓缩至相对密度为 1.25 ~ 1.30, 加入相当于浓缩液 2 倍体积的乙醇, 醇沉后滤液浓缩至相对密度为 1.30 ~ 1.35, 得浸膏样品, 以考察各因素对药材干浸膏和 (R, S) - 告依春收率的影响。

2.3 (R, S) - 告依春含量测定

2.3.1 板蓝根药材处理

取板蓝根药材粉末(过 4 号筛)约 1 g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 精密加水 50 mL, 称定质量, 用电热套回流提取 2 h, 放冷, 再称定质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 以 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得^[3]。

2.3.2 溶液制备

称取 (R, S) - 告依春对照品 0.002 0 g, 精密称定, 加水使其溶解并定容至 50 mL 容量瓶中, 摇匀, 得质量浓度为 40 μg/mL 的对照品贮备液; 精密吸取 4 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀, 配制 16 μg/mL 的 (R, S) - 告依春对照品溶液。分别称取正交试验项下浸膏样品 9 份, 各 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞三角锥形瓶中, 精密加水 25 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷至室温, 再称定质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液^[4-8]。

2.3.3 色谱条件^[9]

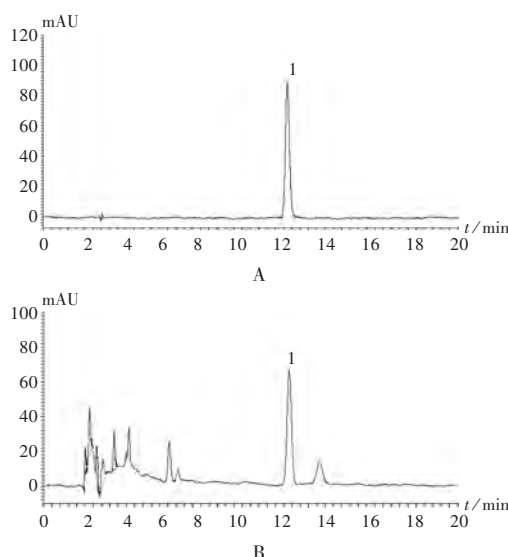
色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 - 水 (12 : 88); 检测波长: 244 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。在此条件下的色谱图见图 1。

2.3.4 含量测定

按照板山岗颗粒中 (R, S) - 告依春含量测定方法^[9] 测得板蓝根药材中 (R, S) - 告依春含量为 0.375 8 mg/g。

2.4 正交试验结果

9 份样品中的药材干浸膏收率和板蓝根中 (R, S) - 告依春含量测定结果见表 2。根据正交试验结果, 采用 SPSS 23.0 统计学软件进行方差分析, 结果见表 3 和表 4。由表 2 可知, 以干浸膏收率为评价指标时, 影响因素顺序为水提取用量(因素 A) > 醇沉时间(因素 C) > 醇沉时



1. (R, S) - 告依春

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

表2 正交试验结果

序号	因素			干浸膏收率(%)	(R, S)告依春含量	
	A	B	C		测得量(mg/g)	收率(%)
1	1	1	1	3.30	0.257 3	68.46
2	1	2	2	3.52	0.246 0	65.46
3	1	3	3	3.07	0.247 0	65.72
4	2	1	2	4.00	0.294 7	78.43
5	2	2	3	4.21	0.298 1	79.33
6	2	3	1	4.53	0.318 5	84.75
7	3	1	3	3.17	0.233 0	62.01
8	3	2	1	3.54	0.238 0	63.32
9	3	3	2	3.68	0.267 9	71.29
k ₁	3.296 7	3.490 0	3.790 0			
k ₂	4.246 7	3.756 7	3.733 3			
k ₃	3.463 3	3.760 0	3.483 3			
R	0.950 0	0.270 0	0.306 7			
k ₁ '	66.546 7	69.633 3	72.176 7			
k ₂ '	80.836 7	69.370 0	71.726 7			
k ₃ '	65.540 0	73.920 0	69.020 0			
R'	15.296 7	4.286 7	3.156 7			

表3 干浸膏收率方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	均方(MS)	F值	F临界值	P
因素 A	1.54	2	0.77	19.59	19.00	< 0.05
因素 B	0.14	2	0.07	1.83	19.00	> 0.05
因素 C	0.16	2	0.08	2.03	19.00	> 0.05
误差 E	0.08	2	0.04			

注: $F_{0.05}(1, 2) = 19$ 。

乙醇浓度(因素 B); 以 (R, S) - 告依春收率为评价指标时, 影响因素顺序为: 水提取用量(因素 A) > 醇沉时乙醇浓度(因素 B) > 醇沉时间(因素 C)。经方差分析可

表4 (R, S)-告依春收率方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	均方(MS)	F值	F临界值	P
因素A	439.21	2	219.60	19.34	19.00	<0.05
因素B	39.15	2	19.57	1.72	19.00	>0.05
因素C	17.49	2	8.75	0.77	19.00	>0.05
误差E	22.71	2	11.36			

注: $F_{0.05}(1, 2) = 19$ 。

知,以干浸膏收率和(R, S)-告依春收率为评价指标时,水提取用量(A)均为显著性因素($P < 0.05$),而醇沉时间、醇沉时乙醇浓度均不具有显著性($P > 0.05$),即水提取用量是最重要因素,即最佳工艺为水提取溶剂用量为(8+6)倍,醇沉时乙醇浓度为95%,醇沉时间为48 h。故选定最佳制备工艺为A₂B₃C₁,即按处方量称取处方药材饮片,加水提取2次,首次加水8倍量提取2 h,第2次加水6倍量提取2 h,提取液浓缩至相对密度为1.25~1.30,加入相当于浓缩液2倍体积的95%乙醇,醇沉48 h后滤液浓缩成相对密度为1.30~1.35的浸膏。

2.5 验证试验

按制剂处方比例各称取板蓝根50 g,山芝麻30 g,岗梅40 g,共3份。按上述最佳提取工艺进行重复验证试验。结果干浸膏收率分别为4.65%,4.58%,4.62%,(R, S)-告依春测得量分别为0.324 9 mg/g,0.326 7 mg/g,0.325 0 mg/g。可见,该工艺不仅干浸膏和代表性成分收率高,而且收率稳定,为最佳提取工艺。

3 讨论

方中板蓝根为君药,性味苦寒,功能清热解毒,预防感冒、利咽,主要用于发热咽痛、温毒发斑、痄腮和烂喉丹痧等^[3];山芝麻和岗梅共为臣药,兼具解表清热、解毒消肿,同时生津止渴、利咽消肿,以辅佐宣湿解表,透达膜原^[10-12]。(R, S)-告依春为方中君药板蓝根的主要化学成分,抗病毒作用明显,为板蓝根抗病毒作用的代表性化合物^[13-14],反映板蓝根及其制剂质量的重要指标。目前,方中的山芝麻和岗梅2味药材在法定药材标准中尚无含量检测项,无法确定这2味药材的有效成分或代表性成分的含量测定方法,故本研究中采用板蓝根药材中代表性成分(R, S)-告依春的收率作为评价指标。

本研究中采用高效液相色谱法测定板山岗颗粒中(R, S)-告依春的含量^[9],对样品制备方法摸索、层析条件的试验、标准曲线的绘制和方法学考察等开展了研究工作,方法简便快捷,准确度高,专属性强,故作为本研究的正交试验及验证试验中(R, S)-告依春的测定方法。

本研究中主要对原有制剂配制工艺进行优化,对原

工艺不明确的药材提取工艺部分开展了研究。原制剂工艺(水煮提2次,每次2 h,水提液合并浓缩后加入2倍体积乙醇沉淀,浓缩成浸膏),未对水煮提的用水量作明确规定,浓缩醇沉时浓缩液配制成醇沉溶液时加入乙醇倍数虽有规定,但未对加入乙醇浓度和醇沉时间作规定,当时的制剂配制研究人员也表示未开展相应研究。为使恢复生产的配制工艺更加科学合理,以药材提取干浸膏和(R, S)-告依春的收率为评价指标,按原工艺的提取时间,以水煮提时的加水量、醇沉时加入乙醇浓度、醇沉时间为3个主要因素,开展了3个水平的正交试验和验证试验,确定了该制剂药材的最佳提取工艺。本研究表明,药材提取干浸膏和(R, S)-告依春的收率最高,且提取方法稳定可行,适用于板山岗颗粒的工业化规模生产,并为其质量控制提供了有力依据,为进一步开发中药新药奠定了基础。

参考文献:

- [1] 谢素治,王政. 中药配方颗粒提取工艺研究进展[J]. 海峡药学,2018,30(7):36-38.
- [2] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:136-140.
- [3] 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,2015:205-206.
- [4] 巩伟,刘忠良,赵庆华,等. 高效液相色谱法测定板蓝根颗粒中(R, S)-告依春的含量[J]. 医药导报,2015,34(6):791-795.
- [5] 朱文灯,张倩,吴翠,等. HPLC法测定板蓝根颗粒中R,S-告依春的含量[J]. 中国医药指南,2015,13(6):51-52.
- [6] 王宁莉,周振旗,贾万仓. 板蓝根饮片、板蓝根颗粒中(R, S)-告依春的含量测定[J]. 中国药业,2018,27(3):30-32.
- [7] 姜雪敏,杨立志. 高效液相色谱法测定蒲地蓝消炎片中R,S-告依春含量[J]. 中国药业,2017,26(5):35-37.
- [8] 苏玲萍,张勇,朱晓北. HPLC法测定板蓝根颗粒中(R, S)-告依春的含量[J]. 世界最新医学信息文摘,2018,18(7):87.
- [9] 陈路,吴无畏,刘钰,等. 高效液相色谱法测定板山岗颗粒中(R, S)-告依春含量[J]. 中国药业,2019,28(12):34-36.
- [10] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准(第一卷)[M]. 南宁:广西科学技术出版社,2008:9.
- [11] 蒋才武,杜冲,伍敏,等. 壮药山芝麻抗炎镇痛止血有效部位的研究[J]. 中华中医药杂志,2010,25(10):1672-1674.
- [12] 祁银德,任玉凤. 岭南地区习用中药岗梅研究进展[J]. 亚太传统医药,2009,5(3):29-32.
- [13] 陈凯,窦月,陈智,等. 板蓝根抗病毒与抗内毒素等清热解毒药效作用及化学基础研究进展[J]. 中国方剂学杂志,2011,17(18):275-278.
- [14] 余丽华,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):359-361.

(收稿日期:2019-05-01;修回日期:2019-07-14)