

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.10.008

生地黄配方颗粒工艺优化及其量值传递研究*

杨 锦¹, 王羲雯¹, 梁馨月², 薛佩芸³, 陈 萍^{1,3,Δ}

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 兵器工业卫生研究所, 陕西 西安 710065; 3. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003)

摘要:目的 优选生地黄配方颗粒制备工艺,并研究其量值传递情况。方法 以干膏率、总多糖、苯乙醇苷类成分(焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷)含量作综合值评价指标,以浸泡时间、加水量、提取时间、提取次数为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选最佳提取工艺。考察成型工艺。通过特征成分的含量测定,考察饮片、中间体和配方颗粒间量值传递效果。结果 最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2D_3$,即浸泡 1.5 h,分别加 10,8,6 倍量水,3 次分别煎煮 2.0,1.5,1.0 h。制备的配方颗粒中苯乙醇苷类 4 个成分的含量分别为 0.012%~0.018%,0.004%~0.006%,0.006%~0.009%,0.007%~0.010%,总转移率分别为 25.69%~27.72%,7.32%~7.86%,31.60%~39.20%,94.11%~95.10%。结论 生地黄饮片水煎提取工艺稳定,重复性好。生地黄饮片、中间体和配方颗粒中苯乙醇苷类 4 个特征成分含量呈量值传递关系,一致性较好。该研究为配方颗粒替代传统煎剂的研究提供了参考。

关键词:生地黄;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

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)10-0029-06

Process Optimization and Quantity Transfer of Sheng Dihuang Formula Granules

YANG Jin¹, WANG Yiwu¹, LIANG Xinyue², XUE Peiyun³, CHEN Ping^{1,3}

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, China 712046; 2. Institute of Industrial Hygiene of Ordnance Industry, Xi'an, Shaanxi, China 710065; 3. Shaanxi Province Chinese Medicine Research Institute, Xi'an, Shaanxi, China 710003)

Abstract: Objective To optimize the preparation process of Sheng Dihuang Formula Granules and research its quantity transfer.

Methods The dry extract yield, total polysaccharides and phenylethanoid glycosides (pyrorehamniae phenylethanoid A1, verbascoside, pyrorehamniae B1 and isophorbasin) were taken as the comprehensive evaluation indexes, and the soaking time, water addition, extraction time and extraction times were taken as the investigation factors, the optimum extraction process was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal test. The preparation process of Sheng Dihuang Formula Granules was investigated. The effect of quantity transfer among decoction pieces, intermediates and formula granules was investigated through the content determination of characteristic components. **Results** The optimal extraction process was $A_3B_2C_2D_3$, which was as follows: soaking for 1.5 h, adding 10, 8 and 6 times of water, and decocting for 2.0, 1.5 and 1.0 h, respectively. The contents of the four characteristic components of phenylethanoid glycosides in the prepared formula granules were in the range of 0.012%~0.018%, 0.004%~0.006%, 0.006%~0.009% and 0.007%~0.010%, respectively, and their total transfer rates were 25.69%~27.72%, 7.32%~7.86%, 31.60%~39.20% and 94.11%~95.10%, respectively. **Conclusion** The water decoction extraction process of raw *Radix Rehmanniae* is stable and reproducible. The content of four characteristic components of phenylethanoid glycosides in decoction pieces of raw *Radix Rehmanniae*, intermediates and formula granules shows a quantity-value transfer relationship with good consistency, which provides a reference for the research of formula granules to replace traditional decoctions.

Key words: raw *Radix Rehmanniae*; formula granules; orthogonal test; optimization process; content determination; quantity transfer

地黄又名地髓、苢、苢^[1],为玄参科多年生草本植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的根,始载于《神农本草经》,并被列为上品,是传统的四大怀药之一,也是我国传统大宗中药材。生地黄味甘,性寒,归心、肝、肾经,为清热凉血之品,有清热凉血、养阴生津功效,用于热入营血、温毒发斑、吐血等证^[2]。其临床主要用于心脑血管疾病^[3]、糖尿病及其并发症、骨质疏松等疾病的治疗,并可发挥神经保护作用^[4]。生地黄主要含有苯乙醇

苷类、环烯醚萜类、糖类、紫罗兰酮类等化合物^[5]。目前对其研究主要集中在饮片及其颗粒的质量控制、化学成分、药理学等方面^[6],而对生地黄配方颗粒工艺优化及其化学成分的量值传递研究尚未见报道。本研究中采用正交试验法,以出膏率、总多糖及苯乙醇苷类 4 个成分含量综合值作为评价指标,优选生地黄标准煎剂的最佳提取工艺;饮片经最佳工艺提取,制备成配方颗粒,通过特征成分的含量测定,考察饮片、中间体和配方颗粒间

*基金项目:陕西省创新能力支撑计划项目[2018PT-29]。

第一作者:杨锦,女,在读硕士研究生,研究方向为中药质量评价与新药开发,(电话)029-85273034(电子信箱)1907769815@qq.com。

Δ通信作者:陈萍,女,大学本科,研究员,研究方向为中药质量评价与新药开发,(电话)029-85395696(电子信箱)cp3049033@163.com。

量值传递效果。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); CP2102 型电子天平(奥豪斯仪器 <常州> 有限公司, 精度为 0.01 g); SQP 型电子天平(规格为 QUINTIX224-1CN、精度为 0.1 mg, 规格为 SECURAI25-1CN、精度为 0.01 mg), 均购自赛多利斯科学仪器 <北京> 有限公司; DK-98-II 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); CS101-3EB 型电热鼓风干燥箱(重庆四达试验设备有限公司); ZF-C 型三用紫外分析仪(上海康禾光电仪器有限公司); Mb 型可调式电热板(北京科伟永兴仪器有限公司); ZDHW 型调温电热套(北京中兴伟业仪器有限公司, 规格为 3 000 mL); GZL100-25L 型湿法制粒机(石家庄科源机械设备有限公司, 功率为 7.5 kW); Synergy 型超纯水制水机(默瑞 <上海> 生物科技有限公司)。

1.2 试剂

生地黄配方颗粒 3 批(杨凌生物医药科技股份有限公司, 编号分别为 01, 02, 03, 批号分别为 20200701, 20200702, 20200703); 毛蕊花糖苷对照品(批号为 1530-200202, 规格为 20 mg, 含量 > 98%), D-无水葡萄糖对照品(批号为 110833-201908, 含量 > 99.8%), 均购自中国食品药品检定研究院; 焦地黄苯乙醇苷 A1(批号为 P16M11S109726, 规格为 10 mg, 含量 > 95%), 焦地黄苯乙醇苷 B1(批号为 P16M11S109727, 规格为 20 mg, 含量 > 97%), 异毛蕊花糖苷(批号为 W17J10C90785, 规格为 20 mg, 含量 > 98%), 洋地黄叶苷 C(批号为 P14M11F109729, 规格为 5 mg, 含量 > 95%), 均购于上海源叶生物科技有限公司; 乙腈、磷酸均为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为自制超纯水; 生地黄饮片 3 批(陕西兴盛德中药饮片有限公司, 批号分别为 20190101, 20190301, 20200101), 经陕西省中医药研究院中药研究所炮制鉴定室杨智峰研究员显微鉴别均为正品。

2 方法与结果

2.1 指标成分考察

2.1.1 干膏率

分别精密量取煎煮液 20 mL, 分别置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣于 105 °C 干燥 3 h, 置干燥器中冷却 30 min, 迅速精密称定质量, 计算干膏率。

2.1.2 总多糖含量

溶液制备: 称取 105 °C 下干燥至恒重的 D-无水葡萄糖对照品适量, 精密称定, 加水制成质量浓度为 1.737 2 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液。精密量取煎

煮液各 2.0 mL, 分别加入 8.0 mL 无水乙醇, 涡旋混匀, 放置过夜, 离心, 倾出上清液, 沉淀, 用 10 mL 80% 乙醇洗涤 2 次, 用水溶解, 并定容至 10 mL, 即得供试品溶液。

线性关系考察: 分别精密量取葡萄糖对照品溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 3.0 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 制成系列对照品溶液, 各精密量取 3.0 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL, 涡旋混匀, 迅速滴加浓硫酸 6.0 mL, 涡旋混匀, 于 50 °C 水浴放置 40 min, 取出, 置水中冷却至室温, 混匀, 制成质量浓度分别为 0, 2.084 6, 4.169 3, 6.253 9, 8.338 5, 12.507 8, 16.677 1, 20.846 4, 31.269 6 $\mu\text{g/mL}$ 的系列待测溶液, 按分光光度法(2020 年版《中国药典(一部)》附录 V A), 于 490 nm 波长处测定吸光度, 以葡萄糖质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、吸光度(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 0.045 8 X - 0.021 2$, $R^2 = 0.998 8$ ($n = 9$)。结果表明, 葡萄糖质量浓度在 2.084 6 ~ 31.269 6 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸光度线性关系良好。

吸光度测定: 精密量取上述供试品溶液各 1.0 mL, 加水 2.0 mL, 同线性关系考察项下方法自“加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL”起操作, 依法测定吸光度, 并计算。

2.1.3 苯乙醇苷类成分含量

色谱条件: 色谱柱为 Diamonsil Plus C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min 时 10% A→14% A, 10~32 min 时 14% A→20% A, 32~35 min 时 20% A→10% A, 35~37 min 时 10% A); 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 334 nm; 柱温为 30 °C; 进样量为 10 μL 。

溶液制备: 分别取焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷对照品适量, 精密称定, 加乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V), 制成每 1 mL 分别含焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷 22.80, 34.82, 59.36, 45.36 μg 的混合对照品溶液。精密吸取煎煮液各 5 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 分别加甲醇 15 mL, 超声 10 min, 用甲醇定容, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 蒸干, 残渣用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)溶解, 移至 5 mL 容量瓶中, 用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。精密吸取 5 mL 水, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

系统适用性试验: 分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 10 μL , 按拟订色谱条件进样测定。结果焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷的保留时间分别为 20.935, 27.399, 29.425, 31.183 min, 理论板数均大于 5 000, 分离度均大于 1.5, 拖尾因子为 1.16~1.23, 详见图 1。

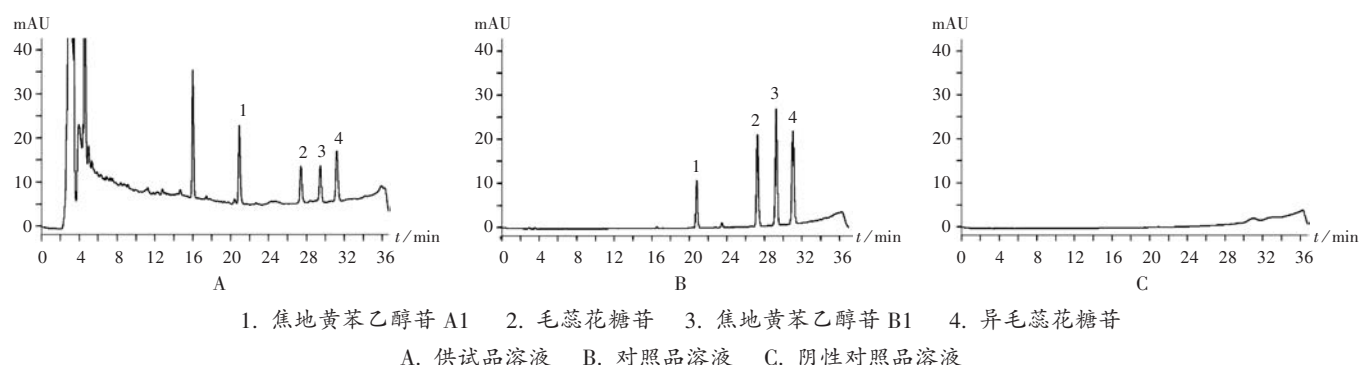


图1 高效液相色谱图

1. pyrodiglycoside A1 2. verbascoside 3. pyrodiglycoside B1 4. isoverbascoside
A. Test solution B. Reference solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系与检测限、定量限考察:分别精密量取混合对照品溶液 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 mL, 置 2 mL 容量瓶中, 用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)定容, 摇匀, 分别精密吸取 10 μ L, 按 2.1.3 项下色谱条件进样测定, 以各成分质量浓度(X , μ g/mL)为横坐标、相应峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程、相关系数和线性范围, 以信噪比(S/N)为 3 和 10 时的质量浓度分别作为检测限和定量限, 结果见表 1。

表1 线性关系与检测限、定量限考察结果($n=6$)

Tab.1 Linear relationship and the results of LOD and LOQ($n=6$)

成分	回归方程	r	线性范围 (μ g/mL)	检测限 (μ g/mL)	定量限 (μ g/mL)
I	$Y_1 = 11.42437X_1 + 0.50959$	0.99999	2.280~22.800	0.380	1.140
II	$Y_2 = 17.26697X_2 + 1.90842$	0.99994	3.480~34.800	0.580	1.740
III	$Y_3 = 12.44727X_3 + 2.07606$	0.99999	5.936~59.360	0.990	2.968
IV	$Y_4 = 15.54456X_4 + 0.97137$	0.99999	4.536~45.360	0.756	2.268

注: I 为焦地黄苯乙醇苷 A1, II 为毛蕊花糖苷, III 为焦地黄苯乙醇苷 B1, IV 为异毛蕊花糖苷; 表 2、表 4、表 6、表 8 同。

Note: I is pyrodiglycoside A1, II is verbascoside, III is pyrodiglycoside B1, IV is isoverbascoside, as well as Tab. 2, Tab. 4, Tab. 6 and Tab. 8.

精密密度试验:分别精密吸取对照品溶液 10 μ L, 按 2.1.3 项下色谱条件重复进样 6 次, 并连续测定 6 d。结果焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、异毛蕊花糖苷日内、日间峰面积的 RSD 分别为 0.45%, 0.45%, 0.25%, 0.13% ($n=6$) 和 0.29%, 0.33%, 0.27%, 0.45% ($n=6$), 表明仪器精密密度良好。

稳定性试验:精密吸取供试品溶液 10 μ L, 室温下按 2.1.3 项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 h 时进样测定。结果焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷峰面积的 RSD 分别为 1.29%, 2.37%, 3.66%, 2.37% ($n=7$), 表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定。

重复性试验:取煎煮液 5 mL, 共 6 份, 依法制备供

试品溶液, 按 2.1.3 项下色谱条件进样测定。结果焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷的平均含量分别为 129.08, 283.68, 67.82, 78.27 μ g/mL, RSD 分别为 4.46%, 4.03%, 4.84%, 4.17% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的煎煮液 2.0 mL, 共 9 份, 分为 3 组, 置 25 mL 容量瓶中, 分别精密加入焦地黄苯乙醇苷 A1 对照品溶液(237.5 μ g/mL)0.5, 1.0, 1.6 mL, 毛蕊花糖苷对照品溶液(489.6 μ g/mL)0.6, 1.2, 1.8 mL, 焦地黄苯乙醇苷 B1 对照品溶液(148.4 μ g/mL)0.4, 0.9, 1.4 mL, 异毛蕊花糖苷对照品溶液(113.4 μ g/mL)0.7, 1.4, 2.0 mL, 加甲醇 15 mL, 超声 10 min, 用甲醇定容, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 蒸干, 残渣用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)溶解, 转移至 5 mL 容量瓶中, 用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 按 2.1.3 项下色谱条件进样测定, 并计算回收率。结果见表 2。

2.2 吸水率考察

称取药材样品(批号为 20200101)50.0 g, 共 3 份, 依次加水 600 mL, 搅匀, 浸泡, 分别于 20, 40, 60, 80, 100 min 及 2, 12, 13 h 时滤出药液, 读取体积, 直至体积不再减少。结果表明, 药液体积 12 h 后不再增加, 计算吸水率为 185.9%, 故首次加水量不得低于 10 倍量。

2.3 正交试验与结果^[7-9]

因素水平:影响样品水煎煮的主要因素有浸泡时间、煎煮时间、加水量(倍数)、煎煮次数及粒度, 考虑大生产常以饮片投料, 在预试验基础上, 选择浸泡时间(A)、煎煮时间(B)、加水量(C)、煎煮次数(D)作为考察因素, 以干膏率、总多糖及苯乙醇苷类 4 个成分含量综合值为考察指标, 因素水平见表 3。

正交试验及方差分析:结果见表 4、表 5。可见, 各因素作用强弱依次为 $D > A > C > B$; 因素 A 和因素 D 对结果有显著影响。根据大生产实际情况综合考虑, 确定

表2 加样回收试验结果($n=9$)
Tab. 2 Results of the recovery tests($n=9$)

样品含量(μg)				加入量(μg)				测得量(μg)				回收率(%)				$\bar{X}$ (%)				RSD(%)			
I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
258.16	567.36	135.63	156.54	118.75	293.76	59.36	79.38	381.73	863.58	196.97	238.581	104.06	100.84	103.34	103.35								
258.16	567.36	135.63	156.54	118.75	293.76	59.36	79.38	377.27	866.76	195.17	237.166	100.30	101.92	100.30	101.57								
258.16	567.36	135.63	156.54	118.75	293.76	59.36	79.38	382.46	870.18	194.48	239.253	104.67	103.08	99.14	104.20								
258.16	567.36	135.63	156.54	237.50	587.52	133.56	158.76	494.54	1178.88	269.11	317.048	99.53	104.08	99.94	101.10								
258.16	567.36	135.63	156.54	237.50	587.52	133.56	158.76	499.05	1153.86	272.31	318.527	101.43	99.83	102.34	102.03	99.95	100.84	100.20	101.21	2.97	2.72	1.73	2.27
258.16	567.36	135.63	156.54	237.50	587.52	133.56	158.76	490.56	1140.60	267.52	320.646	97.85	97.57	98.75	103.37								
258.16	567.36	135.63	156.54	380.00	881.28	207.76	226.80	631.91	1485.06	345.38	379.518	98.35	104.13	100.96	98.31								
258.16	567.36	135.63	156.54	380.00	881.28	207.76	226.80	623.85	1416.90	340.61	379.918	96.23	96.40	98.66	98.49								
258.16	567.36	135.63	156.54	380.00	881.28	207.76	226.80	627.22	1446.30	339.95	379.847	97.12	99.73	98.34	98.46								

表3 因素水平表
Tab. 3 The factors and levels

水平	因素 A(h)	因素 B(倍)	因素 C(h)	因素 D(次)
1	0.5	10,10	1.5,1.0	2
2	1.0	10,8	2.0,1.5	3
3	1.5	8,8	2.0,1.0	4

注:第3次煎煮时加6倍量水、煎煮1.0 h,第4次煎煮时加5倍量水、煎煮0.5 h。

Note: Adding 6 times of water and decocting for 1.0 h in the third time. Adding 5 times of water and decocting for 0.5 h in the fourth time.

表4 正交试验设计与结果

Tab. 4 Design and results of the orthogonal test

序号	因素				干膏率 (%)	总多糖 (%)	苯乙醇苷类(%)					综合值 (%)
	A	B	C	D			I	II	III	IV	小计	
1	1	1	1	1	63.33	2.07	0.013	0.028	0.007	0.008	0.056	16.378
2	1	2	2	2	61.80	0.97	0.015	0.030	0.008	0.008	0.061	15.723
3	1	3	3	3	71.22	0.96	0.016	0.023	0.008	0.006	0.053	18.072
4	2	1	2	3	68.29	1.11	0.015	0.027	0.007	0.008	0.057	17.379
5	2	2	3	1	63.43	0.93	0.011	0.026	0.006	0.007	0.050	16.115
6	2	3	1	2	65.48	1.07	0.015	0.027	0.007	0.007	0.056	16.666
7	3	1	3	2	70.13	0.91	0.012	0.029	0.007	0.009	0.057	17.789
8	3	2	1	3	78.84	1.37	0.014	0.025	0.007	0.007	0.053	20.079
9	3	3	2	1	69.16	1.03	0.009	0.016	0.005	0.005	0.035	17.565
K_1	50.17	51.55	53.12	50.06								
K_2	50.16	51.92	50.67	50.18								
K_3	55.43	52.30	51.98	55.53								
S_j	0.59	0.08	0.27	0.61								

注:综合值=苯乙醇苷类量 $\times 50\%$ +干膏率 $\times 25\%$ +总多糖 $\times 25\%$ 。

Note: Comprehensive value = phenylethanoid glycosides $\times 50\%$ + dry extract yield $\times 25\%$ + total polysaccharides $\times 25\%$.

最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2D_3$,即浸泡1.5 h,分别加10,8,6倍量水,3次分别煎煮2.0,1.5,1.0 h。

验证试验:取药材样品(批号为20200101)50.0 g,共3份,按最佳工艺进行煎煮、浓缩,稀释至1 000 mL,制

表5 方差分析结果

Tab. 5 Results of ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	P
A	6.163 593 17	2	3.081 796 58	64.61	<0.05
B(误差)	0.095 392 17	2	0.047 696 08		
C	1.007 163 17	2	0.503 581 58	10.56	>0.05
D	6.509 368 50	2	3.254 684 25	68.24	<0.05

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

Note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

表6 验证试验结果($n=3$)

Tab. 6 Results of the verification test($n=3$)

样品	药材量 (g)	干膏率 (%)	总多糖 (%)	苯乙醇苷类(%)				
				I	II	III	IV	小计
1	50.0	68.12	0.53	0.018	0.027	0.008	0.008	0.061
2	50.0	72.40	0.59	0.017	0.024	0.008	0.009	0.058
3	50.0	69.25	0.46	0.017	0.029	0.008	0.009	0.063
$\bar{X}$	50.0	69.92	0.52	0.017	0.027	0.008	0.009	0.061

备成供试品溶液。结果供试品溶液中生地黄总多糖、焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、异毛蕊花糖苷含量及干膏率均大于或接近正交试验表中的最高值,且重复性好,工艺相对稳定、合理。详见表6。

2.4 成型工艺研究

采用减压浓缩方法,生地黄提取物以60℃减压(-0.09 MPa)条件浓缩至相对密度为1.10~1.20(60℃)的溶液,以糊精作为辅料,以浸膏与糊精(2.5:1, m/m)混合,乙醇制粒,干燥,即得配方颗粒。

配方颗粒最佳制备工艺:取药材2.0 kg,以水浸泡2 h,分别加10,8,6倍量水,分别煎煮2.0,1.5,1.0 h,滤过,合并滤液,浓缩至相对密度为1.20~1.30(60℃)的稠膏,加适量糊精,浸膏与糊精(2.5:1, m/m)混合,以乙醇为黏合剂制粒,干燥,即得配方颗粒1.0 kg。

2.5 中试试验^[7]

取3批药材样品各20.0 kg,以2.4项下工艺制备,

表 7 中试试验结果($n=3$)
Tab. 7 Results of the Pilot test($n=3$)

批号	投料(kg)	提取液(L)	流浸膏(kg)	糊精(kg)	配方颗粒(kg)
20200701	20.0	275	20.9	8.6	10.8
20200702	20.0	281	22.5	8.3	11.3
20200703	20.0	269	21.8	8.2	11.1

得 3 批配方颗粒,进行试验。结果见表 7。

2.6 指标成分量值传递^[8-9]

对照品制备:分别精密量取 2.1.3 项下混合对照品溶液 1.0 mL,置 2 mL 容量瓶中,用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)定容,制成每 1 mL 分别含焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷 11.400,17.408,29.680,22.680 μg 的混合对照品溶液 1。

供试品制备:称取 3 批药材饮片样品粗粉各约 0.8 g,

精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流提取 1.5 h,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 mL,减压回收溶剂近干,残渣用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)溶解,转移至 5 mL 容量瓶中,用乙腈-0.1% 磷酸溶液(16:84, V/V)定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得饮片供试品溶液;分别取中间体、配方颗粒适量,各 3 批,研细,取约 2.0 g,精密称定,同饮片供试品溶液方法制备,即得中间体供试品溶液和配方颗粒供试品溶液。

含量测定:取混合对照品溶液 1 和上述 3 种供试品溶液适量,按 2.1.3 色谱条件进样,测定焦地黄苯乙醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷的含量,计算转移率。结果见表 8。

表 8 饮片→中间体→配方颗粒的苯乙醇苷类成分量值传递结果(%)

Tab. 8 Quantity transfer results of phenylethanoid glycosides from decoction pieces → intermediates → formula granules(%)

剂型	项目	I			II			III			IV		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
饮片	含量	0.057	0.058	0.058	0.073	0.071	0.072	0.025	0.022	0.023	0.010	0.010	0.010
中间体	含量	0.030	0.030	0.031	0.020	0.020	0.019	0.012	0.011	0.012	0.010	0.010	0.009
	转移率	53.86	52.41	53.79	27.76	28.09	26.93	48.00	50.66	52.32	99.02	95.10	95.96
配方颗粒	含量	0.016	0.015	0.015	0.005	0.005	0.005	0.008	0.009	0.008	0.009	0.009	0.009
	转移率	51.47	50.66	47.76	27.45	28.00	27.18	65.83	77.39	67.74	95.05	98.98	98.95
	总转移率	27.72	26.55	25.69	7.62	7.86	7.32	31.60	39.20	35.44	94.11	95.10	94.95

注:量值转化过程转移率,饮片→中间体→配方颗粒;总转移率,饮片→配方颗粒。

Note: The transfer rate in the process of quantity conversion is from decoction pieces to intermediates to formula granules. The total transfer rate was from decoction pieces to formula granules.

3 讨论

3.1 流动相选择

预试验中比较了乙腈-0.1% 醋酸溶液和乙腈-0.1% 磷酸溶液作流动相时结果的影响,测定苯乙醇苷类含量时,以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相时基线更平稳,特征成分分离效果更好。故优选乙腈-0.1% 磷酸溶液作为洗脱体系,并优化得到最佳洗脱程序。

3.2 成分量值转化分析

生地黄饮片、正交煎煮液、中间体、配方颗粒中均检测到洋地黄叶苷 C 成分,其保留时间为 16.035 min,分离度较好,由于对照品量少且不稳定,配制的溶液保存时间短,不易进行含量测定,故只作成分指认;中药在煎煮和制剂工艺过程中可能产生新物质或发生其他动态变化,是中药药效物质基础研究中的重要因素。本试验中,生地黄中间体和配方颗粒中的毛蕊花糖苷转移率偏低,异毛蕊花糖苷转移率偏高,由于毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷为同分异构体,生地黄在煎煮过程中毛蕊花糖苷可能部分转化为异毛蕊花糖苷^[10-12],将焦地黄苯乙

醇苷 A1、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1 和异毛蕊花糖苷 4 个成分含量综合值作为评价生地黄的量值传递研究的特征成分更合理。

3.3 辅料选择

采用优选的最佳提取工艺进行生地黄特征成分的提取,能提高制剂含药量,利于饮片发挥药效;生地黄饮片中特征成分的化学性质不稳定,采用 60 $^{\circ}\text{C}$ 减压(-0.09 MPa)浓缩至相对密度为 1.20~1.30(60 $^{\circ}\text{C}$);由于中药浸膏多具有吸湿性,故选择加入适当、适量的辅料与之混合,辅料选用糊精、淀粉进行考察,其中糊精具有无异味、溶解性好、不易吸潮、稳定性好等优点,可溶性淀粉具有成型性好、化学性质稳定且吸附力强、流动性好等优点^[13-14]。本研究结果显示,糊精比淀粉流动性、成型性好,不易吸湿,故选择糊精作为辅料。又考察了润湿剂为乙醇溶液时,浸膏与糊精的比例分别为 3:1(m/m)和 2.5:1(m/m)时的生地黄配方颗粒质量,结果确定浸膏与糊精的比例为 2.5:1(m/m)时生地黄配方颗粒质量最佳。

传统的中药煎剂制备成中药配方颗粒后,由于剂型