

开胃合剂提取工艺研究

张 芹 蒲维娅 钱 芳
(江苏省中医院, 江苏南京 210029)

摘 要 目的:优选开胃合剂的提取工艺。方法:以橙皮苷的含量和水提浸膏得率为指标,采用正交试验法,考察水提的工艺条件:加水量、提取时间、提取次数。结果:最佳提取工艺为加水 12 倍,煎煮 3 次,每次 60min。结论:优选的提取工艺合理可行。

关键词 开胃合剂 橙皮苷 正交试验 提取工艺

中图分类号 R289.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2016)01-0061-03

开胃合剂由陈皮、佩兰、川石斛、石菖蒲、益智仁、冬瓜子、甘草等组成,具有醒脾开胃助食之功效,临床用于病后、体弱、胃气不振,表现为饮食无味、食欲呆滞、食量减少,以致神疲乏力等症,以及功能性消化不良的患者。本研究采用正交试验法,以处方中君药陈皮的有效成分橙皮苷及水提浸膏得率为评价指标,对开胃合剂的水提工艺进行优选。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent1100 高效液相色谱仪, 四元泵

(G1311A),柱温箱(G1316A),VWD 检测器(G1314A),工作站(Chemstation)。1/10 万电子分析天平(BP-211D 型,德国 Sartorius);KQ-1000E 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);101-1A 型电热鼓风干燥箱(南通沪通制药机械设备厂);HH-4 数显型恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);Millipore-Q 纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.2 试药 橙皮苷对照品(含量测定用,批号

微波治疗作用,其照射可以同时增加温热和透热,可形成物理性和化学性的蒸汽压,促进药物透皮吸收。药物的挥发油成分和生姜又可起到烧灼作用,损伤表皮角质层,使之产生发热、充血、发痒等现象,通过躯体内脏反射作用,传到脏腑,调节机体自身,调整脏腑阴阳,从而达到扶正祛邪的目的。

本研究结果表明,在口服蒙脱石散的基础上加用温肾止泻方敷脐联合 TDP 理疗能够缓解 IBS-D 患者的腹痛、腹部不适,减少大便次数,改善大便性状,同时改善精神状态、纳食不佳、腰膝酸软等脾肾阳虚的症状,减少中远期的复发等,值得临床推广。下一步我们将针对本法的治疗机制、敷贴时间和生姜汁浓度的精确控制进行深入研究。

参考文献

- [1] BIXQUERT M.Treatment of irritable bowel syndrome with probiotics: growing evidence [J].Indian J Med Res, 2013,138(2):175.
- [2] MYKLETUN A,JACKA F,WILLIAMS L,et al.Prevalence of mood and anxiety disorder in self reported irritable bowel syndrome (IBS).An epidemiological population based study of women[J].BMC Gastroenterol,2010,10:88.

- [3] 崔立红,李超,王晓辉,等.肠易激综合征临床症状学及分型研究[J].解放军医药杂志,2014,26(2):1.
 - [4] 罗马委员会.功能性胃肠病罗马Ⅲ诊断标准[J].胃肠病学,2006,11(12):761.
 - [5] 中华中医药学会脾胃病分会.肠易激综合征中医诊疗共识意见[J].中华中医药杂志,2010,25(7):1062.
 - [6] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则(试行).北京:中国医药科技出版社,2002:139.
 - [7] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组.肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007,长沙).中华消化杂志,2008,8(1):38.
 - [8] 李向.温肾止泻方敷脐加 TDP 治疗脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征 59 例[J].福建中医药,2012,43(6):34.
 - [9] 李娜,李向,孟浩.自拟附子温中汤联合中药脐部敷贴治疗慢性腹泻 33 例临床疗效观察[J].四川中医,2013,31(4):93.
- 第一作者:孟浩(1963—),男,本科学历,主任中医师,从事中医肛肠疾病的临床、科研以及教学工作。
通讯作者:张庆伟,硕士研究生,主治医师。
zqw5894309@163.com

收稿日期:2016-03-30

编辑:吴 宁

110721-201115), 购自中国药品生物制品检定所。高效液相色谱所用试剂为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。所用中药饮片均购自江苏省药材公司, 并由本院专家鉴定。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计 根据预试, 确定采用水提方法进行提取。开胃合剂提取工艺采用水煎煮提取的方式, 影响水提效果的主要因素为提取时间(A)、提取次数(B)、加水量(C)^[1-2]。选用 $L_9(3^4)$ 正交设计试验, 因素与水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平

水平	因素		
	A 提取时间(min)	B 提取次数(次)	C 每次加水量(倍)
1	40	1	8
2	60	2	10
3	90	3	12

2.2 水提取得率 精密吸取各样品溶液 1mL, 水浴蒸干, 置 105℃烘箱中干燥 3h, 取出, 置干燥器中冷却 30min, 取出, 迅速称重。

2.3 橙皮苷的含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱: Hadera ODS-2 C_{18} 柱 (250mm×4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.6%醋酸溶液 (32:68); 检测波长 283nm; 柱温 30℃; 流速: 1.0mL/min; 进样量 5 μ L。^[3]

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷对照品 14.66mg, 置棕色量瓶中, 加甲醇溶解制成每毫升含橙皮苷 586.4 μ g 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 分别吸取正交试验提取液 2mL, 置 10mL 容量瓶中, 加甲醇超声处理 15min, 再加甲醇至刻度, 用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 滤液作为供试品溶液。

2.3.4 阴性供试品溶液的制备

除去处方中的陈皮, 按供试品溶液制备方法制备陈皮阴性供试品溶液。

2.3.5 系统适用性试验 取对照品溶液、供试品溶液、阴性供试品溶液分别进样, 样品中橙皮苷与其他组分分离良好, 阴性样品无干扰。

2.3.6 标准曲线的制备 取上述对照品溶液, 用甲醇稀释至 293.2、146.6、73.3、36.65、18.325、9.1625 μ g/mL 浓度的对照品溶

液。分别精密吸取各不同浓度的对照品溶液 5 μ L, 注入高效液相色谱仪中测定。经线性回归, 得橙皮苷回归方程 $y=1836.9x+20.182$, $r=0.9999$, 橙皮苷进样量在 0.0458~2.932 μ g/mL 范围内, 与峰面积的积分值呈良好的线性关系。

2.3.7 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 5 μ L, 注入高效液相色谱仪, 重复测定 6 次, 以峰面积计算, RSD 为 0.83%。结果表明仪器精密度良好。

2.3.8 重复性试验 取同批次样品, 按照供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液, 测定并计算橙皮苷含量, RSD 为 1.41%, 表明方法重复性良好。

2.3.9 稳定性试验 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件, 于 0、2、4、6、8、12h 分别进样, 测定色谱峰面积, RSD 为 1.23%, 表明供试品溶液在 12h 内稳定性良好。

2.3.10 加样回收率试验 精密量取已知含量的同一批供试品溶液共 6 份, 加入适量橙皮苷对照品溶液, 按上述供试品溶液制备项下方法制备供试品溶液, 测定计算橙皮苷含量, 平均回收率为 99.22%, RSD 为 1.94%, 说明该方法回收率良好。

2.4 正交试验结果 根据 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验, 分别测定提取液中橙皮苷量和水提浸膏得率。橙皮苷量为水煎提取正交试验的主要考核指标, 同时将水提浸膏得率作为水煎提取正交试验的考核指标, 权重系数分别定为 0.7、0.3。把橙皮苷量 Y_1 (mg)、水提浸膏得率 Y_2 (%) 最高者定为 100, 其余按公式 $Y'_1=Y_1/Y_{1max} \times 100$, $Y'_2=Y_2/Y_{2max} \times 100$, 计算相应得分, 再按公式 $Y=0.7Y'_1+0.3Y'_2$ 计算综合评分作为筛选指标。结果见表 2。

表 2 水煎提取正交试验结果

试验号	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D	水提浸膏得率(%)	橙皮苷量(mg)	综合得分
1	1	1	1	1	8.06	52.82	29.27
2	1	2	2	2	14.68	160.89	73.84
3	1	3	3	3	16.84	220.43	96.09
4	2	1	2	3	11.02	116.49	54.07
5	2	2	3	1	16.51	208.13	91.68
6	2	3	1	2	17.61	199.37	90.60
7	3	1	3	2	12.67	113.72	55.75
8	3	2	1	3	16.87	177.92	82.64
9	3	3	2	1	19.36	208.01	96.06
I	199.20	139.09	202.51	217.01	$\Sigma Y=670.01$		
II	236.36	248.16	223.97	220.19	$CT=49878.67$		
III	234.44	282.76	243.52	232.81			
R	11.75	47.89	13.67	5.26			

2.5 方差分析 由方差分析表(表3)和正交试验结果可以看出,因素B对试验结果有显著影响,因素A、C对试验结果没有显著影响,各因素影响次序为 $B>A>C$, 各因素不同水平的影响次序为 $A_2>A_3>A_1, B_3>B_2>B_1, C_3>C_2>C_1$, 因此最佳提取工艺为 $A_2B_3C_3$, 即每次加水 12 倍,每次煎煮 60min,煎煮 3 次。

表3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	291.80	2	145.90	6.27	$P>0.05$
B	3748.17	2	1874.08	80.55	$P<0.05$
C	280.53	2	140.27	6.03	$P>0.05$
D	46.53	2	23.27		

注: $F_{0.05}(2,2)=19, F_{0.01}(2,2)=99$ 。

2.6 验证试验 称取与正交试验等量饮片 3 份,按优选的提取工艺提取,结果见表4,表明优选的工艺可行。

表4 验证试验结果

试验号	干浸膏得率(%)	橙皮苷量(mg)
1	18.19	200.83
2	17.56	209.16
3	18.33	202.62
平均值	18.03	204.20
RSD(%)	1.86	1.75

3 讨论

陈皮为方中君药,具理气健脾功效,橙皮苷为陈皮的主要活性成分,因此选择橙皮苷为含量测定指标成分。橙皮苷属于二氢黄酮类化合物,呈弱酸性,容易与 C_{18} 柱填料的残余硅醇基发生相互作用,导致色谱峰拖尾,流动相中加酸能抑制硅醇基作用,改善峰形^[4-6]。

样品含量测定中流动相的选择,参考 2010 年版中国药典一部陈皮药材项下方法,以甲醇-醋酸-水(35:4:61)为流动相,结果未能完全分离,故调整流动相比,以甲醇-0.6%醋酸溶液(32:68)为流动相时能获得满意的分离,分离度和峰形较好。试验中对 3 种色谱柱(Kromasil, Heder, Elite- C_{18})进行考察,均能得到很好的分离效果,表明橙皮苷含量测定方法有较好耐用性。

正交试验样品橙皮苷含量测定时,按 2.3.3 项下供试品溶液的制备方法:吸取相同量的提取液,各正交试验所得样品制备的供试品溶液,橙皮苷进样浓度差异较大;按 2.2 项下计算水提浸膏得率时,吸取相同量的提取液,测得的浸膏量差异较大。为

了减小误差,根据经验及预试验,浓缩至不同的体积,以使各供试品溶液橙皮苷进样浓度和浸膏量接近。

在提取工艺筛选试验中为了达到有效成分最大量溶出,以橙皮苷量为水煎提取正交试验的主要考核指标;开胃合剂含有多味中药,其成分较为复杂,为了充分发挥中药复方的疗效,以水提浸膏得率为次要指标。根据查阅的文献和以往的工艺研究,主要考核指标权重系数一般定为 0.7,次要指标权重系数定为 0.3。故本试验分别将橙皮苷量和水提浸膏得率的权重系数定为 0.7 和 0.3。

由正交试验结果可知,因素 B 对试验结果有显著影响,因素 A、C 对试验结果没有显著影响。各因素不同水平的影响次序为 $A_2>A_3>A_1, B_3>B_2>B_1, C_3>C_2>C_1$, 因此最佳提取工艺为 $A_2B_3C_3$, 即每次加水 12 倍,每次煎煮 60 分钟,煎煮 3 次。

综上,本验证试验结果表明,优选工艺合理可行。

参考文献

- [1] 孟硕,张鹏,刘建勋.果胶酶水解法对栀子提取液中环烯醚萜类成分的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):10.
- [2] 张卉,赵婷婷,戴柳江,等.半仿生-酶法提取甘草中甘草酸的工艺研究[J].中国现代应用药学,2013,30(9):969.
- [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,2010:176.
- [4] 胡安青.反相高效液相色谱法测定羚贝止咳糖浆中橙皮苷含量[J].中国药业,2011,20(14):39.
- [5] 柴金苗.高效液相色谱法测定明目上清片中橙皮苷的含量[J].中国中医药信息杂志,2010,17(12):43.
- [6] 张明昶,邵进明,彭小冰,等.反相高效液相色谱法测定不同制法华盖散中橙皮苷的含量[J].时珍国医国药,2010,21(1):22.

第一作者:张芹(1981—),女,本科学历,主管中药师,主要从事中药质量控制工作。

通讯作者:蒲维娅,本科学历,副主任中药师。
pwyl974@126.com

收稿日期:2015-12-14

编辑:吴宁

