

补心益气煎膏生产工艺研究

赵林钢 姚 毅 祁乃喜 万伟中 倪昌荣

(南京中医药大学附属医院药学部, 江苏南京 210029)

摘 要 目的:以补心益气煎膏为例,优化膏方生产工艺流程,提高膏方产能。方法:应用 HPLC 和正交试验,以补心益气煎膏剂中活性成分阿魏酸提出量、全方收膏率的综合评分为考察指标,以提取次数、提取时间、加水量 3 个因素设计 $L_9(3^4)$ 正交试验优选补心益气煎膏剂的提取工艺。结果:最佳生产工艺为采用夹层反应锅提取浓缩,加 10 倍量水。结论:优选的制备工艺稳定可靠,可用于补心益气煎膏剂的生产制备,也为我院膏方的生产工艺的优化提供了依据。

关键词 补心益气 正交试验 提取工艺 膏方 阿魏酸

中图分类号 R289.5

文献标志码 A

文章编号 1672-397X(2016)12-0067-03

补心益气煎膏处方来源于我院名老中医的经验方,临床使用多年,全方由川芎、黄芪、当归、白芍、熟地黄等八味药组成,临床用于心悸失眠、头晕目眩、面色无华、妇人月经不调、经量少或闭经等。当今膏方制作工艺传承了传统的浸泡、煎煮、浓缩、收膏(成型)、凉膏五道工序^[1],制作过程中,原料药浸泡、煎煮工艺是影响膏方质量的重要因素,实际制作中工艺相差甚远。膏方制作工艺的良莠不齐,严重影响了膏方质量。本研究以“补心益气”煎膏剂为代表方,对医院中药膏方的生产工艺展开研究。以阿魏酸含量、出膏率的综合评分为指标,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验^[2],确定补心益气煎膏剂最优生产工艺的因素水平,从而优化膏方生产工艺,进一步提高产能。

1 实验材料

1.1 仪器 Waters2695 高效液相色谱仪, Waters 2998 紫外检测器, Empower 色谱工作站, AG135 型电子天平(瑞士梅特勒), A1104N 电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司), CQ250 超声清洗器[33KHz±2Hz, (250±70)W, 上海船舶电子设备研究所], 球型可倾式夹层反应锅(温州扬名机械有限公司), 煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司)。

1.2 材料 处方饮片均来自江苏省中医院中药房,符合 2015 版《中国药典》一部项下规定。阿魏酸对照品(批号:110773-201313),购自中国药品生物制品检定所。甲醇(色谱纯,天津市化学试剂二厂),乙酸(分析纯,开封化学试剂总厂),水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hadera ODS-2 (4.6mm×200mm,

5μm)色谱柱;流动相:1%醋酸溶液-甲醇(70:30)洗脱;检测波长:321nm;柱温:30℃;流速:1mL/min;进样量:10μL;理论板数按阿魏酸峰计不低于 3000。^[3]

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品 11.82mg, 70%甲醇溶解,定容至 10mL 棕色容量瓶中,充分混匀,精密量取 1mL,用 70%甲醇定容至 100mL 棕色容量瓶中,制成每 1mL 含阿魏酸 11.82μg 的对照品贮备溶液。

2.2.2 煎膏供试品溶液的制备 按处方比例称取药材,加入适量水,按一定工艺条件进行提取,提取液浓缩至适量体积定容至 100mL 后,量取浓缩液 1mL,置 25mL 容量瓶中,加超纯水稀释至刻度,过 0.45μm 微孔滤膜,取续滤液,即得^[4]。

2.2.3 阴性对照液的制备 称取不含川芎的其余处方药材,按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备阴性对照液。

2.3 方法学考察

2.3.1 方法专属性考察 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10μL,注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件测定,结果表明无杂峰干扰,基线平稳,见图 1。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取浓度为 11.82μg/mL 的阿魏酸对照品溶液 1、2、4、6、8、10μL 进样,按照“2.1”项下色谱条件分析。以进样量(μg)为横坐标(X),以相应的对照品峰面积为纵坐标(Y),进行回归处理,得回归方程: $Y=65421.54X-346671.23$, $r=0.9996$ 。结果表明,阿魏酸在 1.182~11.82μg 范围内线性关系良好。

基金项目:江苏省中医院院级课题(Y15023);常州四药医院药学科科研基金(2016YX019)

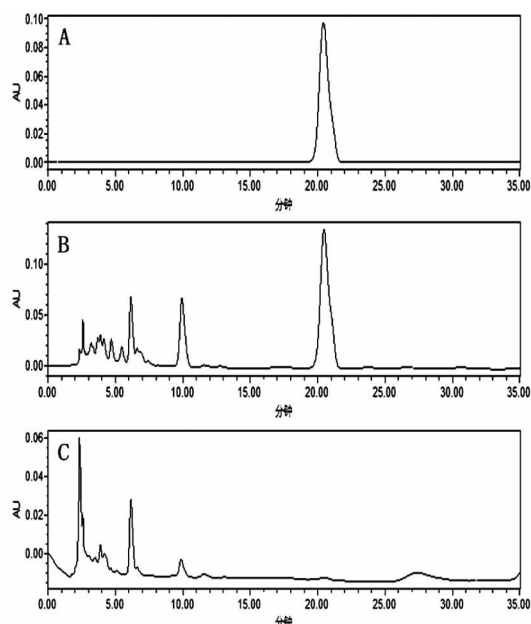


图1 阿魏酸高效液相色谱图
(A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.川芎阴性对照液)

2.3.3 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液按照“2.1”项下色谱条件进样 10 μ L,连续进样 6 次,计算阿魏酸的峰面积。结果阿魏酸峰面积的 *RSD* 为 1.23%,表明仪器精密度良好,符合含量测定的要求。

2.3.4 稳定性试验 取同一批供试品溶液分别于 0、2、4、6、8、12h 进样,按照“2.1”项下色谱条件进样分析,计算阿魏酸的峰面积。结果阿魏酸峰面积的 *RSD* 为 1.12%,表明供试品溶液在该环境下 12h 内稳定,符合含量测定要求。

2.3.5 重复性试验 取同一批样品,按供试品溶液的制备方法平行制备 6 份样品溶液,按照“2.1”项下色谱条件各进样 10 μ L 测定。结果阿魏酸峰面积的 *RSD* 为 1.23%,表示该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 按“2.2.2”项下方法制备已知阿魏酸含量的煎膏供试品浓缩液 1mL,精密吸取 0.5mL 置于 25mL 容量瓶中,精密加入适量对照品溶液,加超纯水稀释至刻度,过 0.45 μ m 微孔滤膜,取续滤液,即得,平行制备 6 份。后按照“2.1”项下色谱条件分别进样 10 μ L,计算其加样回收率。结果阿魏酸的平均回收率为 97.97%,*RSD* 为 1.57%,见表 1。

表1 阿魏酸的加样回收率试验结果

取样量 (mL)	原有量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均值 (%)	<i>RSD</i> (%)
0.5	5.91	11.82	17.37	96.95	97.97	1.57
0.5	5.91	11.82	17.66	99.41		
0.5	5.91	11.82	17.71	99.83		
0.5	5.91	11.82	17.23	95.77		
0.5	5.91	11.82	17.43	97.46		
0.5	5.91	11.82	17.54	98.39		

2.4 干膏得率测定^[5] 分别精密量取提取液 20mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干后置 105 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥 3h,置干燥器中冷却 0.5h,迅速精密称定质量,至两次质量差异不超过 0.3mg 为止,记录各样品液的干膏质量,计算干膏得率。

2.5 正交试验设计 在参考文献、预实验单因素考察各因素水平范围的基础上,选择加水量、提取次数及提取时间为考察因素,以阿魏酸含量、干膏得率为主要评价指标^[6],设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。为客观反映各因素间的关系及因素水平对水提液质量的影响,拟采用综合加权评分法进行数据处理^[7],总分以 100 分计,其中阿魏酸的含量占 60 分,干膏得率占 40 分。 $A=60\times B_0/B_1+40C_0/C_1$,其中 A 指综合评分, B_0 指阿魏酸含量, B_1 指阿魏酸含量最大值, C_0 指干膏得率, C_1 指干膏得率最大值。

按处方量称取各药材,共 9 份,按因素与水平表(表 2)安排试验,药材加适量水煎煮一定的时间与次数后合并提取液,过滤浓缩至 100mL,得药液后检测各项指标。

表2 正交试验因素水平

水平	因素		
	A(加水量,倍)	B(提取时间,min)	C(提取次数,次)
1	6	40	1
2	8	60	2
3	10	80	3

由直观分析可知,各因素对补心益气煎膏剂提取工艺的影响顺序为 $A>B>C$,即加水量>提取时间>提取次数。经方差分析表明,加水量对提取结果具有显著性影响,而提取次数和提取时间则对提取结果的影响无统计学意义。从直观上看,最佳提取工艺为 $A3B1C1$,即加 10 倍量水提取 1 次,每次 40min。具体实验结果见表 3、4。

表3 正交试验结果

试验号	A	B	C	D(空白)	阿魏酸(μ g/g)	干膏得率	OD(分)
1	1	1	1	1	9.49	19.35	87.57
2	1	2	2	2	9.45	17.83	85.01
3	1	3	3	3	9.32	19.93	87.43
4	2	1	2	3	9.48	20.37	89.08
5	2	2	3	1	9.33	18.76	85.70
6	2	3	1	2	9.51	17.45	84.76
7	3	1	3	2	9.85	24.83	98.16
8	3	2	1	3	9.74	23.91	96.09
9	3	3	2	1	9.67	26.03	98.95
K1	86.67	91.603	89.473	90.74			
K2	86.513	88.933	91.013	89.31			
K3	97.733	90.38	90.43	90.867			
R	11.22	2.67	1.54	1.557			

表4 综合评分方差分析

方差因素	离差平方和	自由度	F	F 临界值	显著性
A	248.31	2	55.377	19	*
B	10.718	2	2.39	19	
C	3.627	2	0.809	19	
D(误差)	4.484	2	1	19	

注: $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

2.6 验证试验 按处方比例称取各药材共3份,按最佳提取工艺参数提取,测定阿魏酸含量和干膏得率,计算综合评分值。结果发现优选的提取工艺条件稳定可行,可作为补心益气煎膏剂的提取工艺。具体结果见表5。

表5 验证试验结果

批次	阿魏酸含量($\mu\text{g/g}$)	干膏得率(%)
1	9.8427	26.21
2	9.8492	25.77
3	9.8532	26.12
Average	9.8484	26.03
RSD(%)	0.054	0.89

3 讨论

本实验同时也考察了不同提取、浓缩设备及加水量、提取次数、时间对膏方质量的影响,结果表明采用夹层反应锅提取40min,浓缩30min,加水量范围为6~10倍量,提取次数范围为1~3次,提取时间范围为40~80min时膏方的质量最佳。

鉴于中药复方成分的复杂性,任何单一成分均难以代表制剂的效应,而补心益气汤作为补益药,多糖类大分子也是药效成分,因此本研究以其出膏率、阿魏酸为考察指标。但各指标的影响程度不同,为保证指标的全面性,数据处理引入了综合指标概念,给予关键因素相应的权重系数。这种多指标综合加权评分法较好地避免了单一评价的片面性,使分析采样指标更全面

的同时,对于关键影响因素又给予了相应的侧重。本研究在根据王晖等^[8]对多指标综合评价方法研究及权重系数如何选择和确立的基础上,结合自身试验的特点和考察指标间的关系,合理、科学地设置各指标的权重系数。我们设置这个比例考虑到中药有效成分及出固率的关系,一般指标性成分的提取比出固率来得更为重要,因此设置指标性成分权重系数为60分,而出固率设置为40分,使分析结果更为科学和客观,也使补心益气煎膏工艺优化合理、可信,为补心益气煎膏的规模化生产提供了一定的参考。

参考文献

- [1] 张延君.丹麦补心膏的制备工艺探讨[J].光明中医,2015,30(10):2237.
- [2] 肖卫红,杨全伟,何伟,等.正交设计优选九味益胃合剂提取工艺研究[J].中国药房,2015,26(19):2711.
- [3] 刘旺培,黄义纯,陈华龙.HPLC法测定天王补心丸中阿魏酸的含量[J].中国药房,2015,26(21):3003.
- [4] 王虎,任路路,任莹,等.HPLC法测定十四味当归活血合剂中阿魏酸的含量[J].安徽医药,2015,19(5):873.
- [5] 叶淑颖,唐业建,曾怡,等.正交试验法优选泰痹颗粒的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(17):37.
- [6] 杨晶,刘嘉琪,王宝昌,等.正交试验优选桑白皮总黄酮的最佳提取工艺[J].辽宁中医杂志,2014,41(2):319.
- [7] 张金莲,姚冬琴,龚千锋,等.多指标综合加权评分法优选马兜铃蜜制工艺[J].中成药,2012,34(2):321.
- [8] 王晖,陈丽,陈垦,等.多指标综合评价方法及权重系数的选择[J].广东药学院学报,2007,23(5):583.

第一作者:赵林钢(1976—),男,硕士,副主任中药师,研究方向为中药学及药事管理。

通讯作者:姚毅,本科学历,主任中药师。
yaoyi@medlink.com.cn

收稿日期:2016-06-28

编辑:吴宁

(上接第66页)

- mycotoxins[M]. Lyon:World Health Organization International Agency for Research on Cancer,1993:245.
- [2] 龚燕,蔡建荣,赵晓联,等.ELISA法检测红曲中的黄曲霉毒素B₁[J].无锡轻工大学学报,2004,23(4):10.
 - [3] 刘鹏,杜平华,苏德模.18批中成药黄曲霉毒素的检测[J].中国中药杂志,1999,24(5):287.
 - [4] 郑荣,毛丹,王柯,等.HPLC法测定中药中黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁、G₂含量[J].药物分析杂志,2005,25(6):610.
 - [5] 张雪辉,陈建民.高效液相色谱法与荧光光度法检测中药材中黄曲霉毒素的比较[J].药学报,2004,39(12):997.
 - [6] SHYU R H,SHYU H F,LIU H W,et al.Colloidal gold-based immunochromatographic assay for detection of ricin[J].Toxicon,2002,40(3):255.

- [7] ONO E Y,ONO M A,FUNO F Y,et al.Evaluation of fumonisin-aflatoxin co-occurrence in Brazilian corn hybrids by ELISA[J].Food Addit Contam,2001,18(8):719.
- [8] EGNER P A,WANG J B,ZHU Y R,et al.Chlorophyllin intervention reduces aflatoxin-DNA adducts in individuals at high risk for liver cancer[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2001,98(25):14601.

第一作者:林方芬(1976—),女,本科学历,主管中药师,从事中药质检研究。276006127@qq.com

收稿日期:2016-07-11

编辑:吴宁