

黄连紫草膏中地黄、紫草的醇提工艺优选

刘丽花, 翟来超, 陈天朝*

(河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 优选黄连紫草膏中地黄、紫草的提取工艺。方法: 以梓醇、毛蕊花糖苷、紫草素的含量和干膏得率为指标, 考察乙醇体积分数、提取时间、乙醇用量、提取次数对提取工艺的影响, 通过层次分析法确定各指标的权重系数, 均匀设计优选醇提工艺。结果: 最佳提取工艺为 12 倍量 65% 乙醇提取 2 h。结论: 该优选工艺稳定可行, 可为提取工艺的确定和剂型改革提供依据。

[关键词] 层次分析法; 均匀试验; 醇提工艺; 紫草; 地黄

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)15-0035-04

Optimization of Ethanol Extraction Technology for *Rehmannia glutinosa* and *Arnebia euchroma* from Huanglian Zicao Gel

LIU Li-hua, ZHAI Lai-chao, CHEN Tian-chao*

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of *Rehmannia glutinosa* and *Arnebia euchroma* from Huanglian Zicao gel. **Method:** With the content of the catalpol, verbascoside and shikonin, yield of dry extract as indexes, to investigate influence of ethanol concentration, extraction time, ethanol dosage and extraction times on extraction process, weight coefficient of indexes were determined by analytic hierarchy process, ethanol extraction technology was optimized by uniform design method. **Result:** The best extraction process was: extracted 2 h with 12 times the amount of 65% ethanol. **Conclusion:** This optimized technology was stable and feasible, it could provide basis for determination of extraction technology and formulations reformation.

[Key words] analytic hierarchy process; uniform design test; ethanol extraction process; *Arnebia euchroma*; *Rehmannia glutinosa*

黄连紫草膏(原名黄连膏)为《河南省医院制剂规范》1988 年版收载之处方。由地黄、黄连、当归、黄柏、紫草 5 味药物组成, 具有清热燥湿、解毒、消炎、止痛等功效, 方中地黄为君药, 主要成分为苷类, 以环烯醚萜苷为主, 具有抑制某些致病性真菌、降低血压、改善肾功能等作用; 紫草为佐药, 主含萘醌类

化合物, 具有抗病原微生物、抗炎、促进皮肤再生的作用。2 味药所含成分均易溶于乙醇, 故采用均匀设计试验以梓醇、毛蕊花糖苷、紫草素的含量和干膏得率为指标, 考察乙醇体积分数、提取时间、乙醇用量、提取次数对其提取工艺的影响, 以期优选出黄连紫草膏中地黄、紫草的醇提工艺, 为其工业化生产提供实验依据。

1 材料

AEL-200 型 1/万电子天平(日本岛津), LC-10A TVP 型高效液相色谱仪(日本岛津), CP2250D 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司)。

梓醇对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 808-9301), 毛蕊花糖苷、紫草素对照品(四川维克奇

[收稿日期] 20120214(008)

[基金项目] 河南中医学院院级课题(2008kj14)

[第一作者] 刘丽花, 药师, 从事中药制剂及临床药学研究, Tel: 13676986452, E-mail: liulihua321@sohu.com

[通讯作者] * 陈天朝, 主任药师, 从事中药剂型研究, Tel: 13700845011, E-mail: ctc661111@163.com

生物科技公司,批号分别为 100409,100409),乙腈、磷酸为色谱纯,水为自制纯水,其余试剂均为分析纯,地黄、紫草饮片购自安徽济人药业,经河南中医学院第一附属医院药剂科陈天朝主任药师鉴定均符合《中国药典》2010 年版一部各饮片规定。

2 方法与结果

2.1 均匀试验设计^[1] 根据实际生产及相关文献调查发现,选取乙醇体积分数、提取时间、乙醇用量、提取次数为考察因素,设计各因素水平前 3 个拟定为 7 个水平,提取次数定为 3 个水平。选择均匀设计表 $U_7(7^3 \times 3^1)$ 进行试验,其因素水平见表 1。

表 1 黄连紫草膏中地黄、紫草的醇提取工艺均匀设计试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取时间/min	C 乙醇用量/倍	D 提取次数/次
1	65	30	6	1
2	70	45	7	2
3	75	60	8	3
4	80	75	9	
5	85	90	10	
6	90	105	11	
7	95	120	12	

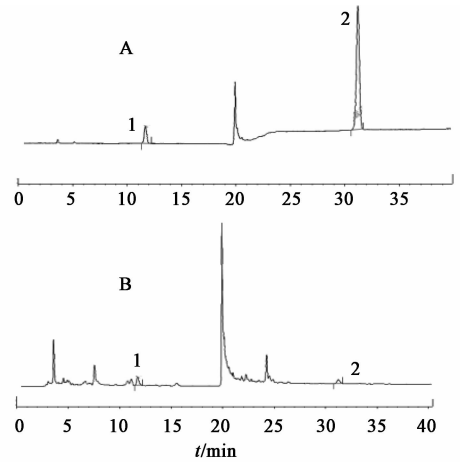
2.2 梓醇和毛蕊花糖苷含量测定^[2]

2.2.1 色谱条件 Agilent SB-AQ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~13 min, 1% A; 13~35 min, 19% A),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,检测波长 210 nm(梓醇),334 nm(毛蕊花糖苷),进样量 10 μL。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称取梓醇和毛蕊花糖苷对照品 8.5,1.38 mg,用流动相定容至 25mL 量瓶中备用,精密吸取上述对照品溶液 1,2,3,4,5,6 mL 至 10 mL 量瓶中,流动相定容,0.45 μm 滤膜过滤,进样 10 μL,按色谱条件测定,记录色谱图。以峰面积积分值(Y)对进样量(X)进行线性回归,得回归方程分别为 $Y_{梓醇} = 2 \times 10^5 X + 1.8 \times 10^4$ ($r = 0.9992$), $Y_{毛蕊花糖苷} = 2 \times 10^6 X + 5.7 \times 10^3$ ($r = 0.9997$)。结果表明梓醇和毛蕊花糖苷分别在 0.34~2.04,0.0552~0.3312 mg·L⁻¹ 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.3 供试品溶液制备 精密量取 20 mL 样品,水浴挥干,加流动相转移并定容至 10 mL 量瓶中,0.45 μm 滤膜滤过,即得。进样 10 μL,见图 1。

2.2.4 阴性对照考察 按处方称取药材(缺地黄),按 2.2.3 项下方法制备,即得阴性对照溶液,进



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照溶液; 1. 梓醇; 2. 毛蕊花糖苷

图 1 黄连紫草膏醇提液 HPLC

样 10 μL,表明阴性无干扰。

2.2.5 精密度试验 取同一质量浓度梓醇和毛蕊花糖苷混合对照品溶液连续重复进样 6 次,每次 10 μL,梓醇 RSD 1.56%,毛蕊花糖苷 RSD 0.09%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取同一供试品溶液连续重复进样 6 次,每次 10 μL,梓醇 RSD 1.39%,毛蕊花糖苷 RSD 0.70%。说明该方法重复性良好。

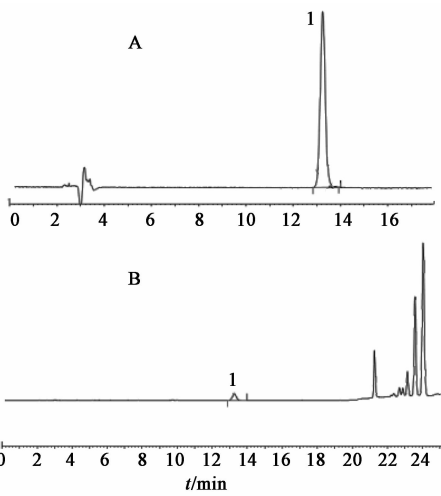
2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液于 0,1,2,4,8,12,24 h 进样,计算 24 h 内梓醇和毛蕊花糖苷 RSD 分别为 1.44%,0.24%。表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.3 紫草素含量测定

2.3.1 色谱条件 Agilent SB-AQ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~15 min, 50% A; 15~25 min, 80% A)流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,检测波长 516 nm,进样量 10 μL。

2.3.2 标准曲线制备 精密称取紫草素对照品 3.71 mg,加甲醇定容到 25 mL 量瓶,精密吸取 1 mL 至 10 mL 量瓶中,用甲醇定容,即得质量浓度为 14.8 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液 0.5,1,1.5,2,2.5 mL 至 5 mL 量瓶中,用甲醇定容,0.45 μm 滤膜滤过,进样 10 μL,按色谱条件测定,记录色谱图。以峰面积积分值(Y)对进样质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程 $Y = 15151X - 15.2$ ($r = 0.9999$),线性范围 1.48~7.40 mg·L⁻¹。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密量取样品溶液 10 mL,水浴蒸至近干,加甲醇定容至 10 mL,0.45 μm 滤膜滤过,即得。进样 10 μL,见图 2。



A. 对照品; B. 供试品溶液; C. 阴性对照溶液; 1. 紫草素

图2 黄连紫草膏醇提液 HPLC

2.3.4 阴性对照考察 按处方称取药材(缺紫草),按2.3.3项下方法制备,即得。

2.3.5 精密度试验 取紫草素对照品溶液重复进样6次,每次10 μL,记录峰面积积分值,结果RSD 0.98%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h各进样1次,每次10 μL,测定峰面积,结果RSD 1.36%,说明供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.7 重复性试验 取同一供试品溶液6份,进样10 μL, RSD 0.71%,表明方法重复性良好。

2.4 层次分析法计算权重系数^[3-4] 采用多指标进行评价,对各指标进行权重系数研究,计算各指标权重系数。比较同一层次目标的相对重要性,并构成两两比较矩阵。在各项指标两两比较判断矩阵中,各指标成分的评分标准见表2。根据处方中各药物在临床药效中发挥君、臣、佐、使的作用,四项评价指

标成对比较的判断优先矩阵见表3。

表2 梓醇、毛蕊花糖苷、紫草素的含量和干膏得率各层次评分标准

对比打分	相对重要程度	说明
1	同等重要	两者对目标的贡献相同
3	略为重要	根据经验一个比另一个评价稍为有利
5	基本重要	根据经验一个比另一个评价更为有利
7	确实重要	一个比另一个评价更有利,且在实践中证明
9	绝对重要	重要程度明显
2, 4, 6, 8	两相邻程度的中间值	需要折衷时采用

表3 建立成对比较判断优先矩阵

指标	梓醇	毛蕊花糖苷	紫草素	干浸膏
梓醇	1	2	3	5
毛蕊花糖苷	1/2	1	2	3
紫草素	1/3	1/2	1	2
干浸膏	1/5	1/3	1/2	1

计算初始权重系数, $W_1' = 2.340, W_2' = 1.316, W_3' = 0.760, W_4' = 0.427$ 。计算归一化权重系数, $W_i = W_i' / \sum_{i=1}^m w_i', W_1 = 0.483, W_2 = 0.272, W_3 = 0.157, W_4 = 0.088$ 。计算权重系数随机一致性比率 $\lambda_{max} = 1/m \sum_{i=1}^m (\sum_{j=1}^m a_{ij} \times w_j \div w_i) = 4.015, CI = (\lambda_{max} - m) / (m - 1) = 0.005, CR = CI/RI = 0.005/0.9 = 0.005, CR < 0.1$, 满足一致性要求, 所以所求的权重系数有效。其中 W 代表各指标的权重系数; CR 为随机一致性比率, 作为衡量所得权重系数是否合理的指标, CI 为一致性指标, RI 代表平均随机一致性指标。

2.5 均匀试验数据分析 结果见表4。

表4 黄连紫草膏中地黄、紫草的醇提取工艺均匀设计试验安排

No.	A	B	C	D	梓醇转移率/%	毛蕊花糖苷转移率/%	紫草素转移率/%	干膏得率	综合评分/分
1	65	45	8	3	76.6	74.9	66.9	35.4	71.2
2	70	75	11	3	62.0	94.4	85.2	35.2	72.1
3	75	105	7	2	81.2	98.6	50.9	30.2	76.7
4	80	30	10	2	65.1	78.0	59.2	24.7	64.1
5	85	60	6	1	38.6	55.9	52.2	12.7	43.1
6	90	90	9	1	45.7	45.4	40.2	12.0	41.8
7	95	120	12	3	27.1	33.0	76.1	10.8	35.0

采用 SPSS 17.0 统计软件对上述均匀设计试验结果进行线性回归分析, 得回归方程 $Y = 122.496 +$

$0.054X_2^2 + 0.398X_3^2 (r = 0.999), F = 35.767, P < 0.05$, 表明提取时间(X_2)、溶剂倍数(X_3)与提取效

白芷、石菖蒲对冲和膏处方中主要成分经皮渗透作用的影响

王亚静*, 孙士真, 张德芹, 田慧, 彭淑娟, 王艳明

(天津中医药大学天津市现代中药重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 300193)

[摘要] 目的: 考察佐使药白芷、石菖蒲对冲和膏中主要成分经皮渗透的影响。方法: 采用改良 Franz 透皮扩散池, 大鼠离体皮肤为渗透屏障, 以芍药苷和蛇床子素为指标, HPLC 测定其含量, 分别考察白芷、石菖蒲及其配伍联用对冲和膏主要成分促透作用的影响。结果: 白芷、石菖蒲单用对芍药苷经皮渗透的增渗倍数分别为 0.84, 1.02, 对蛇床子素的增渗倍数分别为 1.54, 0.79; 配伍联用后芍药苷和蛇床子素的经皮渗透均达到最佳水平, 增渗倍数分别 1.00, 1.89。结论: 白芷、石菖蒲配伍联用可促进主要成分的经皮渗透, 对冲和膏处方药效的发挥具有重要的佐使作用。

[关键词] 白芷; 石菖蒲; 经皮渗透; 芍药苷; 蛇床子素; 冲和膏

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)15-0038-04

Influence of *Angelica dahurica* and *Acorus tatarinowii* on Transdermal Permeation Role of Active Ingredients from Chonghe Gel Prescription

WANG Ya-jing*, SUN Shi-zhen, ZHANG De-qin, TIAN Hui, PENG Shu-juan, WANG Yan-ming

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Key Laboratory of Modern Traditional Chinese Medicine-Provincial and Ministry Built State Key Laboratory Breeding Base, Tianjin 300193, China)

[收稿日期] 20120224(005)

[基金项目] 天津市高校双五科技计划项目(SW20080007)

[通讯作者] *王亚静, 副研究员, 从事制剂新剂型设计与新药开发, E-mail: yajing022@163.com

果呈正相关, 且溶剂倍数对提取效果的影响大于提取时间, 而乙醇体积分数(X_1)与提取次数(X_4)经显著性检验对方程几乎无影响, 这与正常情况貌似相悖, 一般情况下提取次数应与提取效果呈正相关, 推测因为紫草中所含紫草素脂溶性极强, 提取 1 次即可提取完全。呈正相关时, 在因素水平范围内数值越大越好, 即提取时间与溶剂倍数取最大值, 而乙醇体积分数与提取次数取最小值。故确定最佳提取工艺为 12 倍量 65% 乙醇提取 120 min, 提取 1 次, 带入方程得 Y 为 94.5%。为验证优选工艺的可行性, 进行 3 次验证试验, 结果表明综合转移率分别为 93.5%, 91.2%, 90.7%。说明该优选工艺稳定可行。

综合指标转移率 = 梓醇转移率 $\times W_1$ + 毛蕊花糖苷转移率 $\times W_2$ + 紫草转移率 $\times W_3$ + 干膏得率 $\times W_4$ 。

3 讨论

近年来中药复方提取的研究很多, 关键是如何选择优选指标, 以及对所选指标的评价, 单一指标只

能代表这一类成分, 并不能代表中药复方整体的提取效果, 所以建立一种简单快速的评价方法, 还是很关键的。在选择多指标基础上, 更应当选择不同类的指标, 再用层次分析法对指标的加权系数进行合理评价, 这样才能体现中药的整体观念。

[参考文献]

- [1] 刘丽花, 陈天朝, 翟来超. 均匀设计优选黄连紫草膏中黄连、黄柏、当归水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 33.
- [2] 陈天朝, 翟来超. HPLC 同时测定地黄中梓醇与毛蕊花糖苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 105.
- [3] 任爱农, 卢爱玲, 田耀洲. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 372.
- [4] 任爱农, 孔铭, 田耀洲. 清清颗粒的质量标准研究[J]. 中成药, 2007, 29(3): 456.

[责任编辑 仝燕]